

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1923

THÈSE

N. 394

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Henri LORION

Né le 19 mai 1897 à Clamart

Ancien Externe des Hôpitaux de Paris

Ancien Interne à l'Hôpital de l'Institut Pasteur

Médecin-assistant des Sanatoriums de Bligny

LES MÉTHODES BACILLOSCOPIQUES

DANS LE DIAGNOSTIC DE LA

TUBERCULOSE PULMONAIRE

Président : M. LÉON BERNARD, professeur

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

JOUBE & C^{ie}, ÉDITEURS

45, rue Racine. 15

1923

384

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1923

THÈSE

N°
394

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Henri LORION

Né le 49 mai 1897 à Clamart

Ancien Externe des Hôpitaux de Paris

Ancien Interne à l'Hôpital de l'Institut Pasteur

Médecin-assistant des Sanatoriums de Bligny

LES MÉTHODES BACILLOSCOPIQUES

DANS LE DIAGNOSTIC DE LA

TUBERCULOSE PULMONAIRE

Président : M. LÉON BERNARD, professeur

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

JOUBE & C^{ie}, ÉDITEURS

45, rue Racine. 15

1923

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

LE DOYEN : M. ROGER
ASSESEUR : G. POUCHET
PROFESSEURS

	MM
Anatomie.	NICOLAS
Anatomie médico-chirurgicale	CUNEO
Physiologie.	CH. RICHET
Physique médicale	ANDRÉ BROCA
Chimie organique et Chimie générale	DESGREZ
Bactériologie	BEZANCON
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	BRUMPT
Pathologie et Thérapeutique générales.	MARCEL LABBE
Pathologie médicale	N...
Pathologie chirurgicale.	LECENE
Anatomie pathologique.	LETULLE
Histologie	PRENANT
Pharmacologie et matière médicale	RICHAUD
Thérapeutique	CARNOT
Hygiène.	BERNARD
Médecine légale.	BALTHAZARD
Histoire de la médecine et de la chirurgie	MENETRIER
Pathologie expérimentale et comparée.	ROGER
Clinique médicale	ACHARD
	WIDAL
	GILBERT
	CHAUFFARD
	MARFAN
Hygiène et clinique de la 1 ^{re} enfance	NOBECOURT
Clinique des maladies des enfants.	
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.	CLAUDE
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.	JEANSELME
Clinique des maladies du système nerveux.	PIERRE MARIE
Clinique des maladies contagieuses	TEISSIER
Clinique chirurgicale	DELBET
	LEJARS
	HARTMANN
Clinique ophtalmologique	GOSSET
	DE LAPPERSONNI
Clinique des maladies des voies urinaires.	LEGUEU
Clinique d'accouchements	BRINDEAU
	COUVELAIRE
Clinique gynécologique.	JEANNIN
Clinique chirurgicale infantile	J.-L. FAURE
Clinique thérapeutique.	AUGUSTE BROCA
Clinique d'Oto-rhino-laryngologie.	VAQUEZ
Clinique thérapeutique chirurgicale	SEBILEAU
Clinique propédeutique.	PIERRE DUVAL
	SERGENT

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.			
ABRAMI	DUVOIR	LE LORIER	RETTERRER
ALGLAVE	FIESSINGER	LEMIERRE	RIBIERRE
BASSET	GARNIER	LEQUEUX	ROUSSY
BAUDOUIN	GOUGEROT	LEREBoulLET	ROUVIERE
BLANCHETIERE	GREGOIRE	LERI	SCHWARTZ(A.)
BRANCA	GUENIOT	LEVY-SOLAL	STROHL
CAMUS	GUILLAIN	MATHIEU	TANON
CHAMPY	HEITZ-BOYER	METZGER	TERRIEN
CHEVASSU	JOYEUX	MOCQUOT	TIFFENEAU
CHIRAY	LABBE HENRI	MULON	VILLARET
CLERC	LAIGNEL-LAVASTINE	OKINCZYC	
DEBRE	LANGLOIS	PHILIBERT	
DESMAREST	LARDENNOIS	RATHERY	

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.



A LA MÉMOIRE
DE MA MÈRE BIEN-AIMÉE

A MON TRÈS CHER PÈRE
LE DOCTEUR LOUIS LORION

*En reconnaissance de tous les
bienfaits que je dois à son affection
et à sa sollicitude, à son expérience,
à ses avis et à ses exemples.*

A MA FAMILLE

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

M. le Professeur LÉON BERNARD

Professeur d'Hygiène à la Faculté de Médecine

Médecin de l'Hôpital Laënnec

Membre de l'Académie de Médecine

Commandeur de la Légion d'honneur

*Hommage de ma respectueuse et
profonde reconnaissance pour son
enseignement de l'hôpital Laënnec
et pour le grand honneur qu'il m'a
fait en daignant accepter la prési-
dence de cette thèse.*

A M. le Docteur LOUIS MARTIN

Sous-Directeur de l'Institut Pasteur

Membre de l'Académie de Médecine

Commandeur de la Légion d'honneur

*Hommage de ma respectueuse et
profonde reconnaissance pour son
enseignement de l'Institut et de l'hô-
pital Pasteur, ainsi que pour ses
précieux et bienveillants conseils.*

A M. le Marquis L. de VOGÜÉ

Président du Conseil d'Administration
des Sanatoriums de Bligny

A Messieurs les Membres du Conseil d'Administration
des Sanatoriums de Bligny

A MON CHER MAITRE

M. le Docteur LOUIS GUINARD

Médecin-Directeur des Sanatoriums de Bligny
Officier de la Légion d'honneur

*Hommage de mon respect, de ma
gratitude et de mon dévouement.*

A MES MAÎTRES DE LA FACULTÉ ET DES HOPITAUX

Stage :

- M. le Professeur PIERRE DELBET (Hôp. Necker, 1916).
M. le Professeur A. CHAUFFARD (Hôp. Saint-Antoine, 1917).
M. le Docteur H. BARTH (Hôp. Necker, 1917).
M. le Professeur E. SERGENT (Hôp. de la Charité, 1919).

Externat :

- M. le Docteur A. BAUMGARTNER (Hôp. de la Charité, 1920).
M. le Professeur LOUIS RÉNON (*in memoriam*) (Hôp. Necker, 1921).
M. le Docteur LUCIEN RIVET (H. Bretonneau, 1922).
M. le Professeur LÉON BERNARD (Hôp. Laënnec, 1922).
M. le Professeur agrégé DEBRÉ (Hôp. Laënnec, 1922).
M. le Professeur COUVELAIRE (Clinique Baudelouque, 1922).

A MES MAÎTRES DE L'INSTITUT ET DE L'HOPITAL PASTEUR

- M. le Professeur A. CALMETTE
M. le Docteur LOUIS MARTIN

- M. le Docteur VEILLON
M. le Docteur DARRÉ

- M. le Docteur SALIMBENI
M. le Docteur DUJARRIC DE LA RIVIÈRE
M. le Docteur REILLY
M. le Docteur-Abbé MAUMUS
M. le Docteur A. COMPAGNON

*Hommage de mon respect et
de ma gratitude.*

- A MM. les Docteurs POTEZ, LAFFAILLE, D'HOUE
A Mlle et à MM. les Docteurs BOTKINE, URBAIN
GUINARD, MONTLAHUC.

INTRODUCTION

La tuberculose a pris à notre époque un développement si inquiétant que la science contemporaine ne saurait trop appliquer toutes ses ressources à combattre ce redoutable fléau. Dans l'état actuel de nos connaissances en phtisiologie, le dépistage précoce des sujets contagieux constitue, concurremment avec quelques autres mesures sanitaires et hygiéniques, le point de départ et une des bases de la prophylaxie antituberculeuse. En conséquence le médecin chargé de cette tâche initiale devrait être pourvu de moyens sûrs, simples et rapides, de découvrir l'agent spécifique chez les malades soumis à son examen.

Il n'est pas téméraire d'espérer que ces desiderata pourront bientôt être pleinement satisfaits, grâce aux progrès marqués et continus de la technique bactériologique. Déjà au cours de ces quarante, et surtout de ces vingt dernières années, les recherches expérimentales en tuberculose pulmonaire ont porté une grande partie de leurs efforts sur le perfectionnement des méthodes d'isolement et de coloration du bacille tuberculeux et elles ont obtenu des résultats encourageants.

Nous disposons actuellement de cinq méthodes bacilloscopiques. Trois d'entre elles sont particulièrement bien connues. Ce sont : 1° La coloration du bacille de Koch dans les crachats et son examen microscopique direct ; 2° L'homogénéisation des crachats tuberculeux ; 3° L'inoculation aux animaux des crachats suspects. Les deux autres, encore à l'étude, méritent d'être approfondies. Ce sont : 1° La culture sur milieu électif du

bacille de Koch contenu dans les crachats ; 2° la recherche du bacille dans les matières fécales.

Nous nous proposons dans ce travail : 1° de passer en revue ces diverses méthodes ; 2° d'examiner parmi ces méthodes, les techniques les plus caractéristiques et les plus employées ; 3° de montrer dans une étude comparative la valeur respective de chacune de ces techniques et de ces méthodes.

Cet essai synthétique nous semble des plus opportuns tant en raison de son intérêt théorique que pour ses conséquences pratiques. Car, ainsi que l'a écrit notre maître, M. le professeur Léon Bernard (1), « cette question soulève aujourd'hui que se multiplient les centres d'examen de tuberculeux des problèmes pratiques auxquels il importe de donner une solution rationnelle... Quels procédés faut-il instaurer dans ces établissements ? De quel matériel dépendant de la méthode adoptée faut-il les pourvoir ? Il est nécessaire actuellement d'établir une doctrine fondée sur une grande quantité de faits de manière à ne pas osciller suivant les opinions d'une méthode à l'autre ».

Nous inspirant de ces vues si hautement autorisées, après avoir entrepris la critique des méthodes bacilloscopiques dans le diagnostic de la tuberculose pulmonaire et comparé leurs résultats, nous déduirons de ces données les applications susceptibles d'intéresser la lutte antituberculeuse et plus spécialement l'organisation idéale d'un laboratoire de dispensaire.

La division de notre travail sera conditionnée par les différents ordres de considérations que nous venons d'énumérer, chaque méthode faisant l'objet d'un chapitre subdivisé lui-même en autant de paragraphes que la méthode comporte de procédés. Aux conclusions qui termineront cette étude fera suite un index bibliographique. Les sources bibliographiques des travaux antérieurs à 1912 sur la coloration du bacille de Koch dans

1. *Revue de la tuberculose*, 1^{er} janvier 1923. *Valeur des méthodes de recherche des bacilles de Koch dans les expectorations*, p. 73.

les crachats ont été exposées d'une manière aussi complète que possible dans l'ouvrage magistral et demeuré justement classique de MM. le professeur Bezançon et I. de Jong (1), dans la thèse de M. Philibert (2) et enfin dans les articles de Bœhme (3) et de K. Berger (4). De même on trouvera dans les thèses de MM. Lucas (5) et Corone (6) l'exposé bibliographique des travaux antérieurs à 1912 sur les homogénéisations. Nous avons restreint notre documentation bibliographique aux travaux publiés durant ces dix dernières années. Elle est déjà assez considérable et nous ne prétendons pas avoir épuisé le sujet. Pour la commodité du lecteur nous avons divisé notre exposé bibliographique d'après l'ordre des matières traitées, et dans chaque division, pour les noms d'auteurs, nous avons suivi comme plus simple l'ordre alphabétique de préférence à l'ordre chronologique.

Notre rôle dans le travail que nous présentons aujourd'hui a été de compiler tous ces documents, de les analyser et d'en extraire ce qui avait directement trait à l'objet de notre étude. D'autre part, sous la direction de M. le Dr Guinard, médecin-directeur des sanatoriums de Bligny, grâce aux installations et moyens d'étude exceptionnels mis à notre disposition et avec l'aide obligeante de Mlle le Dr C. Botkine, chef du laboratoire de ces établissements, nous avons pu réaliser quelques expériences de contrôle relatives à la comparaison des techniques de coloration les plus récentes et à la comparaison des méthodes d'homogénéisation dispensant de la centrifugation, rechercher le taux de

1. Bezançon et de Jong, *Traité de l'examen des crachats*, 1912, Masson.

2. Philibert. Thèse de Paris, *Les pseudo-bacilles acido-résistants*, 1908.

3. Bœhm, *Centralblatt für Bacteriologie Orig.*, 1912, vol. LXII, p. 497.

4. K. Berger, *Centralblatt für Bakteriologie*, 1910, vol. LIII, p. 174.

5. Lucas. Thèse de Paris, 1912-1913, n° 231.

6. Corone. Thèse de Montpellier, 1911.

concentration bacillaire des crachats tuberculeux autolysés ainsi que celui des crachats autolysés puis homogénéisés par des techniques dispensant de la centrifugation, ensementer quelques crachats sur milieu de Pétrof et enfin pratiquer un certain nombre d'inoculations aux cobayes.

Si modestes et si dépourvues d'originalité que soient nos recherches, on voudra bien du moins reconnaître l'effort consciencieux que nous avons tenté pour réunir tant d'éléments divers, les grouper en corps de doctrine selon le vœu exprimé par notre Maître, et en dégager quelques règles précises destinées à guider et à armer efficacement médecins et hygiénistes dans la lutte antituberculeuse.

Orientées presque dès leur début vers les attrayantes autant qu'importantes questions de phtisiologie, nos études ont subi l'influence salubre et féconde des Maîtres dont nous avons été heureux d'inscrire les noms dans la dédicace placée en tête de cette thèse inaugurale. Si ce modeste travail contient quelque chose de bon et d'utile, c'est leur part plus que la nôtre et nous en reportons avec un nouveau sentiment de reconnaissance l'honneur sur leur enseignement.

Nous prions M. le professeur Léon Bernard de daigner agréer l'expression toute particulière de notre respectueuse reconnaissance, tant pour la grande part qui revient à son initiative et à ses précieux conseils dans la thèse dont il nous fait aujourd'hui l'honneur d'accepter la présidence, que pour notre fructueux séjour comme externe dans son service de l'hôpital Laënnec, et notamment à la Crèche des nourrissons, où nous nous sommes efficacement imbu des conceptions les plus modernes touchant la prophylaxie antituberculeuse de l'enfance et de l'âge adulte.

Pour l'incalculable avantage d'avoir été attaché, sous la direction de M. le Dr Louis Martin, à l'hôpital et à son laboratoire de l'Institut Pasteur, et de servir actuellement comme médecin-assistant sous les ordres de

M. le Dr Louis Guinard aux sanatoriums de Bligny, où nous avons trouvé un champ d'étude des plus variés et où nous avons pu achever notre travail inaugural dans les conditions les plus favorables, nous offrons à ces deux Maîtres bienveillants et respectés l'hommage cordial de notre profonde gratitude.

Qu'il nous soit permis en terminant d'exprimer nos respectueux et bien sincères remerciements à MM. les professeurs A. Calmette et F. Bezançon, dont les ouvrages nous ont été très utiles à consulter et ont fourni une ample matière à nos emprunts.

LES MÉTHODES BACILLOSCOPIQUES

DANS LE DIAGNOSTIC DE LA

TUBERCULOSE PULMONAIRE

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

APERÇU HISTORIQUE ET GÉNÉRALITÉS PRÉLIMINAIRES

Il n'entre pas dans notre sujet de refaire en entier l'histoire de la tuberculose. Cependant nous devons rappeler que la contagiosité de cette maladie entrevue dès la plus haute antiquité, puis niée par nombre de médecins, tandis qu'elle était admise par quelques esprits clairvoyants tels que Morgagni (1682-1771), Cotugno (1782), Raulin (1784) et ce Pierre Desault (1675-1737), dont M. le Dr P. Mauriac (1) vient de nous faire connaître la vie et les écrits, fut scientifiquement démontrée et définitivement confirmée par les remarquables travaux de Villemin (1865-1868) et de ses continuateurs. Parmi ceux-ci il est juste de citer les noms de Chauveau, Arloing, Toussaint, Klebs, Cohnheim, Baumgarten, H. Martin, Musgrave-Clay. Mais, tout en inoculant avec succès des substances tuberculeuses aux animaux, ces expérimentateurs ignorèrent assez longtemps la nature essentielle de l'agent contagieux. Ce fut Robert Koch (2), de

1. Mauriac (P.), Pierre Desault, Bordeaux, impr. Gounouilhon, 1923.

2. Koch, *Die Etiologie der Tuberkulose*, Berl. Klin. Wochenschrift, 1882, n° 15 et *die Mittheilungen aus dem Kais. Gesundheitsamte*, 1884, vol. II. Berlin.

Berlin, qui arriva à isoler et à cultiver le bacille de la tuberculose et proclama sa découverte le 10 avril 1882. Procédant directement des idées pastoriennes, la théorie microbienne de la tuberculose est désormais solidement établie. L'agent ordinaire de la contagion est le crachat, l'élément pathogène est le bacille de Koch. C'est à mettre en évidence ce bacille, et par suite à préciser avec certitude le diagnostic de tuberculose, que tendent avec plus ou moins de succès toutes les méthodes que nous aurons à étudier.

Prélèvements des excréta tuberculeux

Avant d'aborder l'étude détaillée des méthodes bacilloscopiques nous allons consacrer une page à la question non négligeable du prélèvement des substances à examiner. Cet acte, le plus élémentaire de la technique de laboratoire, doit être fait le plus soigneusement possible, car c'est du soin avec lequel il aura été fait que dépendront dans une certaine mesure les résultats des recherches entreprises.

Les crachats sont recueillis dans n'importe quel récipient, pourvu que celui-ci soit stérile, sec et ne contienne pas d'antiseptique. La boîte de Pétri constitue le meilleur des crachoirs d'analyse (1).

On doit autant que possible ne recueillir que les crachats du matin. Le malade s'abstiendra d'y mélanger des particules alimentaires, si minimes soient-elles. Il s'efforcera également de ne mêler aux matières purulentes du crachat que le moins possible de salive.

Si le sujet est un tousseur et qu'il expectore facilement, il pourra aisément fournir deux ou trois crachats, nombre suffisant pour les examens que l'on se propose. Ces examens doivent toujours être effectués dans le délai le plus bref.

Si le sujet ne crache pas par absence de sécrétions broncho-alvéolaires, on peut provoquer ces sécrétions par des médicaments appropriés à cet effet. On s'adresse d'ordinaire, soit

1. En matière d'expertise médico-légale (réforme militaire, pensions, assurances, régime pénitentiaire), il est nécessaire de s'assurer de l'authenticité de la provenance des crachats ; dans ces cas le malade est invité à expectorer en présence de celui qui est chargé de leur examen. Etiqueter le récipient et les lames avec le nom et le numéro du malade.

à l'iodure de potassium, soit à la terpine. On donne l'iodure de potassium à la dose de deux cuillerées à soupe par jour dans la potion suivante :

Iodure de potassium.	} <i>ââ</i> 0 gr. 50
Oxyde blanc d'antimoine	
Julep gommeux	120 gr.

Vu l'action congestive de ce médicament, il sera quelque-fois prudent de lui préférer la terpine, que l'on administ- trera en cachets, à raison de deux cachets par jour et pendant trois jours :

Terpine	0 gr. 75
Poudre de Dover	0 gr. 50
Pour un cachet n° 6	

Quand le sujet ne fournit pas de crachats parce qu'il les déglutit, ce qui est la règle chez les enfants au-dessous de sept ans, on peut recueillir un ou deux crachats par l'artifice sui- vant : on excite la muqueuse pharyngée avec l'extrémité du petit doigt ou à l'aide d'un miroir laryngoscopique dont la face réfléchissante est tournée vers le larynx ; un réflexe nauséux est provoqué par l'attouchement du voile du palais et bientôt suivi de l'expulsion d'un crachat que l'on reçoit sur l'extrémité du petit doigt ou sur la face réfléchissante du miroir.

Certains sujets adultes déglutissent leurs crachats sans s'en apercevoir, tels les individus qui dorment la bouche ouverte par suite d'une atrésie des fosses nasales et refoulent leurs sécrétions bronchiques dans le tube digestif. Dans ces cas il y a lieu de recourir au tubage de l'estomac. On pra- tique cette opération le matin. Si elle est difficilement ac- ceptée par les patients ou impossible à exécuter on s'adres- sera à l'examen bactériologique des selles. Le prélèvement des selles en vue de la recherche du bacille tuberculeux se fera de la même manière que pour les autres examens coprolo- giques. On recueillera 50 grammes de matières fécales dans une boîte de Pétri en se servant d'instruments stérilisés (1).

1. Pour renseignements plus complets sur les prélèvements on consultera avec utilité l'ouvrage de MM. Legeay et Liot, *Des Prélè- vements*. Paris, 1922, Vigot.

CHAPITRE II

EXAMEN MICROSCOPIQUE DIRECT DES CRACHATS TUBERCULEUX

L'examen microscopique direct du crachat tuberculeux est la plus ancienne des méthodes bacilloscopiques. C'est celle qu'employa Koch pour déceler le bacille auquel il a donné son nom. Cette méthode comporte deux temps : 1° la préparation sur lames des crachats ; 2° leur coloration.

Préparation sur lames. — Le crachat recueilli est séparé de sa salive et soumis avant sa coloration à différentes épreuves. Les lames sur lesquelles il est étalé sont lavées et brossées dans une solution aqueuse d'acide chlorhydrique à 1 o/o. L'anse de platine servant au prélèvement et à l'étalement de la parcelle purulente à examiner est toujours flambée à la flamme du bec Bunsen ou à celle de la lampe à alcool ; avant de prélever la partie purulente du crachat on a soin de refroidir l'anse de platine, parce que l'excès de calorique pourrait déterminer une stérilisation plus ou moins complète de la substance à examiner.

L'étalement du crachat sur lame ne se pratique qu'avec l'anse, si on veut examiner en même temps les éléments cellulaires de la préparation. Si on se borne à rechercher les bacilles de Koch, on peut étaler une parcelle purulente du crachat entre deux lames ; on obtient ainsi des étalements très minces et très uniformes, ce qui facilite la numération des bacilles.

La préparation étalée est séchée, soit par un séjour de dix minutes à l'étuve à 37 degrés, soit en la passant trois fois rapidement dans la lampe du brûleur. La préparation étalée et séchée est ensuite fixée. La fixation s'obtient en faisant séjourner cinq minutes la lame dans un bain d'alcool absolu ou dans un bain d'acide chromique à 1 o/o ; ce dernier fixateur est le meilleur pour les éléments cellulaires.

La préparation étalée, séchée et fixée est colorée par l'un des nombreux procédés que nous allons décrire. Ces techniques de coloration du bacille de Koch contenu dans les crachats, quoique fort nombreuses, possèdent toutes un caractère commun, à savoir que ce bacille ne se colore bien qu'à chaud et avec des colorants énergiques, et qu'une fois coloré il résiste à l'action décolorante des acides, alcools et autres substances connues comme étant de puissants décolorants (1).

Coloration de Koch. — La réaction colorante qui permit vers 1881-1882 à ce savant d'isoler le bacille tuberculeux des crachats mérite d'être rappelée, ne fut-ce qu'à titre de documentation historique. Voici la composition du colorant employé par le bactériologiste allemand.

Solution alcoolique concentrée de bleu de méthylène.	1 cmc.
Eau distillée	200 cmc.
Solution de potasse à 10 o/o.....	0 cmc. 20

Koch laissait séjourner la préparation vingt-quatre heures au contact du colorant, puis la lavait quelques secondes à l'eau distillée. Le fond était ensuite coloré par une solution aqueuse concentrée de vésuvine. Le bacille de Koch apparaissait sous la forme d'un bâtonnet bleu se détachant sur un fond uniformément brun.

Coloration d'Ehrlich. — La technique de Koch fut reconnue infidèle ; Ehrlich (2) dès 1882 y proposa deux modifications.

Dans un premier procédé il faisait agir le violet de gentiane aniliné à chaud. La préparation colorée était soumise à l'action décolorante de l'acide azotique dilué dans l'eau au tiers. Les bacilles tuberculeux gardent alors la couleur violette et apparaissent presque noirs, tandis que les autres microbes et les cellules prennent une teinte grise.

Dans un procédé ultérieur Ehrlich (3) préconisa la fuchsine

1. Le bacille de Koch est un bacille acido-résistant, c'est-à-dire que, coloré par la fuchsine puis soumis à l'action d'un acide, il garde la coloration. C'est en même temps un bacille alcool-résistant (Bezançon), c'est-à-dire qu'il garde sa coloration, malgré l'action prolongée de l'alcool absolu. Cette dernière propriété permet de le distinguer des autres bacilles acido-résistants.

2. Ehrlich, *Deutsche med. Wochenschrift*, 1882, n° 19.

3. *Charité Annalen*, vol. II, p. 123, 1882.

anilinée ou chlorhydrate de rosaniline, comme étant le meilleur colorant du bacille de Koch.

Techniques de coloration du bacille de Koch par la fuchsine phéniquée

Technique de Ziehl-Neelsen (1). — En 1882-1883 Ziehl et Neelsen précisèrent chaque temps de la coloration d'Ehrlich, ils en fixèrent en particulier rigoureusement la durée et surtout ils donnèrent une nouvelle formule du colorant. Voici d'abord la composition de la fuchsine phéniquée de Ziehl :

La fuchsine employée est une fuchsine basique et non une fuchsine acide ou « Sauerfuchsine », qui est à rejeter, car les bacilles colorés par celle-ci se décolorent très facilement par les acides.

Broyer dans un mortier 1 gramme de fuchsine avec 5 grammes d'acide phénique neigeux, puis ajouter en continuant à broyer 10 centimètres cubes d'alcool absolu, s'arrêter quand il n'existe plus de particules solides dans la solution alcoolique. Ajouter 60 centimètres cubes d'eau distillée, verser dès ce moment le contenu du mortier dans un flacon, laver le mortier et le pilon avec les 40 centimètres cubes restants.

Voici maintenant les différents temps de la technique indiquée par Ziehl-Neelsen :

Faire agir la fuchsine phéniquée à froid sur la préparation vingt-quatre heures, ou bien deux heures à l'étuve à 37 degrés, plus rapidement encore, en dix minutes, par l'intermédiaire de la platine chauffante jusqu'à émission de vapeurs et en s'abstenant de faire bouillir le colorant sur la lame. Un procédé un peu délicat consiste à maintenir la fuchsine au contact du crachat étalé à l'aide d'un petit carré de buvard imbibé de colorant, et à chauffer la lame à quatre ou cinq reprises en la passant dans la flamme d'un bec Bunsen et en s'abstenant toujours de faire bouillir le colorant.

Egoutter le colorant. Faire subir deux minutes l'action décolorante de l'acide nitrique dilué au 1/3, ne pas tremper

1. *Deutsche med. Woch.*, 1882, p. 451 ; 1883, p. 247. *Centralbl. für med. Woch.*, 1883, p. 600.

la préparation encore chaude dans le bain acide. Laver à l'eau, la couleur rose réapparaît, ce qui peut nécessiter, si elle est trop intense, un second bain dans l'acide nitrique. Action décolorante de l'alcool absolu pendant cinq minutes. Laver à l'eau et colorer le fond cinq minutes par le bleu de méthylène alcoolique suivant :

Bleu de méthylène.	1 gr. 50
Alcool absolu	10 gr.
Solution aqueuse phéniquée à 5 o/o	100 gr.

Laver et sécher. Examiner. Le bacille de Koch apparaît coloré en rouge sur fond bleu pâle.

Techniques de Zichl-Neelsen modifiées

Les modifications qu'on a fait subir à la coloration de Ziehl-Neelsen ont porté surtout sur le temps de décoloration par les acides ; un grand nombre de substances ont pu être essayées, les unes sans succès, les autres avec des résultats égaux à ceux obtenus par l'acide nitrique ; de même, pour que le bacille de Koch coloré en rouge par la fuchsine se détache le plus nettement possible, un grand nombre de colorants du fond de la préparation ont été proposés pour remplacer le bleu de méthylène adopté par les premiers expérimentateurs.

TECHNIQUES S'ADRESSANT A DES AGENTS DÉCOLORANTS ACIDES (1)

Neelsen fait agir l'acide sulfurique dilué au 1/3 ou 1/4 pendant deux minutes ; Orth emploie l'acide chlorhydrique à 1 o/o et le fait agir dix minutes. Ces deux auteurs ont obtenu les mêmes résultats qu'en employant l'acide nitrique dilué au 1/3.

L'acide acétique agissant dix minutes a été préconisé par Pétri ; l'acide lactique à 5 o/o pendant un quart d'heure et l'alcool lactique à 2 o/o ont donné de bons résultats à Hauser et à Lesieur.

Les acides suivants en solution faible n'ont pas d'action décolorante, en solution concentrée ils altèrent les bacilles : l'acide tartrique à 10 o/o, l'acide citrique à 10 o/o, l'acide formique (Watson, Cheyne), l'acide oxalique à 2 o/o agissant

1. Citées par Philibert. Thèse Paris, 1908.

de trente à soixante minutes n'ont donné que de médiocres résultats.

TECHNIQUES S'ADRESSANT A DES AGENTS DÉCOLORANTS OXYDANTS

Technique de Rondelli (1). — La décoloration de la préparation se fait en deux ou trois minutes avec de l'eau de javel préparée en dissolvant d'une part 6 grammes d'hypochlorite de chaux dans 60 grammes d'eau, d'autre part 12 grammes de carbonate de potasse dans 40 centimètres cubes d'eau. On filtre les solutions séparément et on les mélange avant de s'en servir. Le fond des préparations décolorées avec ce liquide devient brunâtre, il est donc inutile de le recolorer.

Technique de Müller (2). — On décolore la préparation par une solution alcoolique (alcool à 70°) de bicarbonate de soude à 10 o/o pendant quinze minutes, ou pendant cinq à dix minutes dans l'eau oxygénée à 12 volumes, alcalinisée à la soude.

Technique de Kühne-Borrel (3). — Coloration à chaud par la fuchsine phéniquée. Décoloration incomplète pendant quinze secondes à l'aide de la solution de chlorhydrate d'aniline à 2 o/o. Action de l'alcool absolu jusqu'à décoloration. Par l'action du chlorhydrate d'aniline différents éléments ont été sensibilisés d'une façon spéciale : en effet, sauf le bacille tuberculeux, toutes les cellules et tous les autres microbes sont décolorés par l'alcool absolu. Colorer le fond par le bleu de méthylène.

Technique d'Ehrlich-Konrich (4) (1920). — Coloration à chaud par le colorant de Ziehl. Lavage rapide à l'eau courante. Action de la solution aqueuse de sulfite de soude anhydre à 10 o/o pendant dix minutes. Lavage à l'eau. Coloration terminale quinze à trente secondes avec :

Vert malachite.....	50 parties
Eau.....	100 parties

1. Rondelli-Buscaroni, *Centralb. f. Bakt.*, vol. XXI, p. 70, 1897.
2. Müller, *Centralb. für Bakt.*, vol. XXIX, p. 791, 1901.
3. Kühne, *Centralb. für Bakt.*, vol. XXI, p. 70, 1897.
4. Konrich, *Deutsche med. Wochenschrift*, 1920, p. 741.

TECHNIQUES RÉUNISSANT EN UN SEUL TEMPS L'ÉPREUVE DE L'ACIDO-RÉSISTANCE ET LA COLORATION DU FOND DE LA PRÉPARATION

Technique de Frankel-Gabbet (1). — Coloration à chaud par la fuchsine phéniquée. Faire agir ensuite deux minutes la solution :

Bleu de méthylène.....	en excès
Acide sulfurique.....	25 gr.
Eau distillée.....	100 gr.
Alcool.....	50 gr.

Technique de Cépède (2). — Coloration à chaud par la fuchsine de Ziehl. Faire agir ensuite le colorant préparé de la façon suivante :

Solution A.	{ Bleu de méthylène	en excès.
	{ Acide lactique pur	40 cc.
	{ Eau distillée	160 cc.

Mélanger la solution A avec l'alcool absolu dans les proportions :

Alcool absolu.....	4 parties
Solution A.....	1 partie

Laisser au contact de la préparation pendant cinq minutes, laver ensuite à l'eau, sécher.

TECHNIQUES S'ADRESSANT A UN AUTRE COLORANT DU FOND QUE LE BLEU DE MÉTHYLÈNE

Technique de Karl Spengler (3). — Colorer par la fuchsine phéniquée à chaud ; laver ; passer à l'alcool saturé d'acide picrique deux à trois minutes ; laver à l'alcool à 60 degrés et à l'acide nitrique à 15 o/o pendant vingt à vingt-cinq secondes ; laver à l'alcool jusqu'à décoloration parfaite et à l'eau courante ; colorer de nouveau à l'alcool picrique.

1. Frankel-Gabbet, *Centralblatt für Bakt*, vol. XXIX.
2. Cépède, *Académie des Sciences*, 25 février 1918.
3. Spengler, *Deutsche med. Woch.*, 1907, n° 9, p. 337.

Technique de Spengler-Tribondeau (1)-Jøetten-Haarmann (2). — Même technique que celle de Ziehl-Neelsen. Colorer le fond cinq minutes avec l'alcool picriqué (alcool 60. Acide picrique 40).

Technique de Bender (3). — Colorer à chaud par la fuchsine phéniquée. Décolorer deux minutes à l'alcool chlorhydrique à 3 o/o

Colorer le fond à l'alcool picriqué de Spengler.

Technique de Schulte Tigges (4). — Même technique que celle de Konrich. Coloration du fond par l'alcool picriqué.

Technique de Biot (5). — Coloration habituelle par la liqueur de Ziehl ; après l'action de l'acide nitrique soumettre la préparation à l'action d'un bain de formol à 40 o/o. Coloration du fond par l'alcool picriqué.

Techniques de Kronberger (6) et Porges (7). — Mêmes techniques que celle de Ziehl-Neelsen. Colorer le fond deux minutes par :

Teinture d'iode à 15 o/o.....	1 partie
Alcool à 60°.....	4 parties
	(Kronberger)

ou seulement quelques secondes avec :

Teinture d'iode à 10 o/o.....	92 parties
Acide chlorhydrique concentré.....	8 parties
	(Porges)

Technique de Weiss (8). — Le fond est coloré cinq minutes avec :

Permanganate de potassium.....	0 gr. 1
Eau distillée.....	100 gr.

Technique de Marx (9). — Le fond est coloré après avoir traité la préparation trois secondes par une solution de

1. Tribondeau, C. R. Société de Biologie. Paris, 1917, p. 780-782.
2. Jøetten-Haarmann, *Münchener med. Woch.*, 1920, p. 692.
3. Bender, *Centralb. f. Bsk.* 8, 1921, p. 461-467.
4. Schulte-Tigges, *Deutsche med. Wochenschrift*, 1920.
5. Biol, *Gazette des hôpitaux*, 8 janvier 1914, p. 42.
6. Kronberger, *Beitrag z. Klinik d. Tub.* Vol. XVI, fasc. 2
7. Porges, *Münchener med. Woch.*, 1916, p. 1164.
8. Weiss, *Zeitschrift für Tub.*, 1919, p. 330
9. Marx, *Münchener med. Wochenschrift*, l. XVI, 1919, p. 416.

« chrysoïdin » à 3 o/o avec le bleu de Neisser pendant cinq minutes.

Technique d'Ulrich (1). — Colorer le fond trente secondes avec :

Acide chromique à 60°.....	1 gr.
Alcool absolu.....	100 gr.

Technique de coloration du bacille de Koch par d'autres colorants que la fuchsine

Le bacille de Koch peut se colorer par d'autres colorants que la fuchsine phéniquée et être différencié des éléments voisins avec la même rigueur. Meillière (2) dès 1913 proposa une coloration du bacille de Koch dans les crachats par le cristal violet de Grübler aniliné; cette technique fut peu employée, la coloration de Ziehl-Neelsen étant alors universellement adoptée. Mais plus tard, pendant la guerre, en raison de la pénurie et de la mauvaise qualité de la fuchsine, de nombreux laboratoires d'armée firent usage pour colorer le bacille de Koch, soit du cristal-violet, soit du violet de gentiane, ou bien du bleu de méthylène, en appliquant à ces nouvelles techniques les principes fondamentaux de la coloration de Ziehl, à savoir : 1° que le bacille de Koch ne se colore bien qu'à chaud ; 2° que c'est un acido-résistant. La nécessité d'être aussi complet que possible nous oblige à signaler ces techniques. Elles peuvent être utiles actuellement : si par hasard, on vient à être dépourvu de son colorant habituel, on saura momentanément s'en passer et adopter une technique de fortune.

Technique de Lesieur et Pintenet (3). — Colorer à chaud pendant trois minutes avec le violet de gentiane phéniqué jusqu'à émission de vapeurs. Le violet de gentiane phéniqué est préparé suivant la même formule que celui destiné à l'épreuve de Gram.

Laver légèrement à l'eau. Faire agir comme décolorant l'alcool fort additionné en poids de 3 o/o, en volume de 2 o/o d'acide lactique pendant quatre ou cinq minutes. Colorer le fond par la solution aqueuse de safranine à 1/500.

1. Ulrich, *Deutsche med. Wochenschrift*, 1919, p. 468.

2. Meillière, *Tribune médicale*, octobre 1913.

3. Lesieur, Pintenet et Jacquet. *C. R. Biologie*, 1919.

Technique de Schœdel (1). — Le colorant employé que l'on fait agir à chaud est le suivant :

Solution concentrée alcoolique de bleu de méthylène B. N 1 partie
Eau phéniquée à 2 o/o. 9 parties

Laisser séjourner ensuite deux minutes la préparation dans une solution aqueuse d'acide chlorhydrique à 3 o/o. Colorer le fond deux minutes au brun Bismarck.

Technique de Luisi (2). — Traiter à chaud la préparation par une solution aqueuse saturée de cristal violet. Ajouter au moment de se servir de celle-ci II à III gouttes d'acide phénique à 5 o/o. Décolorer un instant par l'acide nitrique à 40 o/o. Laver à l'eau. Colorer le fond à l'aide d'une solution aqueuse saturée d'orange G.

A titre complémentaire nous signalerons les techniques d'Hermann et de Gasis antérieures aux précédentes ; elles s'adressent également à d'autres colorants que la fuchsine phéniquée, mais elles sont d'une manipulation un peu plus difficile.

Technique d'Hermann (3). — Colorer à chaud pendant une minute avec le mélange suivant :

Solution de violet de gentiane cristallisé dans l'alcool absolu à 3 o/o. 1 partie
Solution aqueuse de carbonate d'ammoniaque à 1 o/o. 3 parties

Décolorer quelques secondes par l'acide azotique à 10 o/o, puis par l'alcool à 95 degrés jusqu'au bleu pâle. Laver rapidement à l'eau distillée. Recolorer le fond avec l'un des colorants :

Solution d'éosine à 1 o/o, carmin alcoolique (Kayser), brun Bismarck (Bender), safranine à 1 o/o (Boehm).

Technique de Gasis (4). — La technique de Gasis repose sur cette constatation que le bacille de Koch est plus résistant aux alcalis qu'aux acides en raison de sa constitution chimique.

Employer d'abord comme mordant une solution d'éosine préparée de la manière suivante :

Eosine cristallisée.....	1 gr.
Alcool absolu.....	5 cc.
Eau distillée.....	95 cc.

1. Schœdel, *Deutsche med. Wochenschrift*, 1920, t. 46, p. 671.

2. Luisi, *Annali d'Igiene*, mai 1922.

3. Hermann, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1908, p. 92.

4. Gasis, *Centralblatt für Bakt.*, vol. L, 1009, p. 111.

Verser dans un petit flacon d'Erlenmeyer et ajouter gros comme une lentille de bichlorure de mercure. Chauffer doucement en agitant et faire bouillir jusqu'à dissolution totale du sublimé. La solution s'éclaircit et abandonne un précipité qui est décanté. Mordancer à chaud la préparation avec ce liquide pendant une à deux minutes. Laver à l'eau puis traiter avec le réactif décolorant alcalin composé comme suit :

Hydrate de soude.	o gr. 5
Iodure de potassium	1 gr.
Alcool à 50°.	100 cc.

jusqu'à ce que la couleur rouge disparaisse et soit remplacée par une teinte verdâtre. Laver soigneusement à l'alcool absolu pour éliminer le réactif décolorant, puis passer à l'eau et colorer à froid pendant deux ou trois secondes avec une solution acide de bleu de méthylène :

Bleu de méthylène cristallisé.	1 gr.
Alcool absolu.	10 cc.
Acide chlorhydrique	o cc. 5
Eau distillée	90 cc.

Laver à l'eau, sécher.

Colorations en séries du bacille de Koch contenu dans les crachats

Dans les grands centres de triage de tuberculeux, en raison du nombre des malades qu'on peut avoir à examiner et sur lesquels on doit statuer dans un court espace de temps, les colorations des préparations sur lames peuvent se faire avantageusement en séries.

La cuvette que le professeur Calmette a imaginée répond tout à fait à cet usage. Elle est en verre ou en porcelaine, rectangulaire, de la hauteur d'une lame de verre ordinaire (95 mm.), le couvercle est mobile et porte douze fentes, chacune de celles-ci ayant l'épaisseur d'une lame. La cuvette est remplie du colorant que l'on doit faire agir (Ziehl, violet de gentiane) ; toute la partie des lames qui porte l'étalement de crachats s'y trouve plongée verticalement ; on peut inscrire un numéro d'ordre sur la partie émergente qui reste à l'abri du colorant. On laisse séjourner les préparations pendant

deux heures à l'étuve à 38 degrés ou vingt-quatre heures à la température du laboratoire.

M. Alliot a imaginé un appareil assez compliqué permettant de colorer à chaud en dix minutes douze préparations à la fois (1).

Résultats de l'examen microscopique direct

Les préparations de crachats sur lames étalées et colorées sont examinées au faible grossissement du microscope (objectif 1 ou 2), puis au fort grossissement (objectif à immersion au 1/12). Le bacille de Koch vu au microscope dans ces préparations se présente sous la forme d'un bâtonnet de longueur variable ; les bacilles les plus longs mesurent de 6 à 7 μ , les plus courts n'ont guère que 1 à 2 μ , la majorité mesure de 3 à 4 μ . Le bacille de Koch apparaît coloré en rouge par la technique de Ziehl-Neelsen ou par une de ses dérivées ; il est violet par les techniques de Biot, de Luisi et de Lesieur et Pintenet ; coloré suivant la technique de Gasis, il est rose pâle ; suivant la technique d'Hermann il est bleu.

Le bacille tuberculeux se détache plus ou moins bien du fond de la préparation. Le choix du colorant du fond a son importance, il ne doit pas être choisi au hasard ; nous verrons plus tard quelles variations peuvent être obtenues dans les résultats en adoptant tel ou tel colorant du fond de la préparation.

Le bacille de Koch, coloré suivant les techniques que nous avons exposées, est uniformément teinté ; pourtant le colorant peut se fixer plus vivement en certains points plus qu'à d'autres ; le bacille prend alors un aspect granuleux qui est très net lorsqu'on le colore par des procédés spéciaux ayant pour but de mettre en évidence les granulations bacillaires, mais ce sont là des techniques assez délicates, d'une valeur pratique discutable et qui ne peuvent être étudiées ici sans sortir du cadre que nous nous sommes imposé au début de ce travail.

Numération bacillaire. — L'examen direct microscopique permet de numérer les bacilles sur une préparation, mais celle-ci doit être aussi mince et aussi uniforme que pos-

1. *Revue d'hygiène et de Police sanitaire*, 1920, p. 759.

sible ; on compte le nombre de bacilles trouvé dans dix à vingt champs, on fait la moyenne qui correspond à un tableau de numération tel que les deux spécimens ci-joints :

ECHELLE DE GAFFSKY

- N° 1. De un à quatre bacilles sur toute la préparation.
- N° 2. Un bacille sur quelques champs.
- N° 3. Un bacille sur chaque champ.
- N° 4. De deux à trois bacilles sur chaque champ.
- N° 5. De quatre à six —
- N° 6. De sept à douze —
- N° 7. Plus de douze —
- N° 8. Beaucoup.
- N° 9. Enormément.
- N° 10. Incomptable. Bouillon de culture.

ECHELLE DE M. LE D^r GUINARD

- N° 1. Un à cinq bacilles sur toute la préparation.
- N° 2. Un à deux bacilles sur quelques champs.
- N° 3. Un à deux bacilles sur chaque champ.
- N° 4. Trois à quatre —
- N° 5. Cinq à sept —
- N° 6. Huit à dix —
- N° 7. Onze à quinze —
- N° 8. Seize à vingt-cinq —
- N° 9. Plus de vingt-cinq —
- N° 10. Enormément. Bouillon de culture.

Valeur diagnostique de l'examen direct

Examen direct positif. — La présence du bacille de Koch décelée à l'examen direct a une valeur diagnostique considérable, pathognomonique, elle fournit la preuve irréfutable de la tuberculose pulmonaire, la clinique et la radiologie précisant la marche et l'étendue des lésions anatomiques. Toutefois si rigoureuses que soient les techniques que nous venons d'étudier, elles ne sont pas exemptes de critiques. L'erreur que l'on peut être le plus exposé à commettre, c'est de confondre le bacille de Koch contenu dans les crachats avec des

bacilles acido-résistants, aussi difficiles à colorer mais moins résistants à l'action décolorante des acides et surtout de l'alcool.

Les cas dans lesquels on trouve ces bacilles acido-résistants sont relativement rares. Nous rappellerons sommairement quelques faits signalés par un certain nombre d'auteurs : Frankel, Pappenheim, L. Rabimovitch ont rencontré des bacilles acido-résistants dans des expectorations de gangrène pulmonaire, Münchener dans celles de la dilatation bronchique, Corone dans des lésions simulant la tuberculose pulmonaire (vérification nécropsique), Loob et Maller ont vu ces acido-résistants contenus dans la salive, dans le beurre et la crème.

Quelle valeur doit-on accorder à la morphologie du bacille de Koch contenu dans les crachats ?

Le professeur Calmette, dans ses derniers travaux concordant avec ceux de MM. Bezançon et Rollot (1), Pissavy et Robinne (2), a pu conclure que « la morphologie des bacilles pas plus que la prédominance d'éléments bacillaires granuleux ne sauraient à l'heure actuelle avoir d'intérêt tant au point de vue diagnostic qu'au point de vue pronostic » (3).

Quelle valeur doit-on accorder au nombre de bacilles de Koch trouvés sur une préparation ?

Voici d'après Jacob l'opinion admise actuellement (4) :

« La notion du nombre des bacilles est dépourvue d'intérêt lorsqu'on examine un crachat pour la première fois. Les bacilles peuvent être peu nombreux dans les formes franchement évolutives et se montrer en grande quantité dans des formes torpides à évolution favorable. C'est seulement lorsqu'on suit chez le même malade l'évolution de sa maladie par des examens de crachats répétés que l'on peut établir un rapport entre l'évolution clinique et la diminution ou l'augmentation du nombre de bacilles dans l'expectoration. Au cours d'une poussée évolutive, si celle-ci doit évoluer heureusement, le nombre des bacilles diminue, à l'examen direct, d'un examen à l'autre ; ensuite ils ne sont décelés que par l'homogénéisation et enfin par l'inoculation au cobaye. Dans les tuberculoses fibreuses les bacilles de Koch sont

1. Bezançon et Rollot, *Revue de la tuberculose*, 1921.

2. Pissavy et Robinne, *Revue de la tuberculose*, 1921.

3. Cité par Jacob, *Journal médical français*, sept. 1923.

4. Jacob *Journal médical français*, sept. 1923.

souvent difficiles à mettre en évidence à l'examen direct (1). »

Examen direct négatif. — L'absence de bacilles de Koch constatée dans l'expectoration n'a de valeur que si elle porte sur un grand nombre d'examens, suffisamment espacés, convenablement exécutés. Il y a lieu de vérifier également si les produits examinés viennent bien du poumon et non du nasopharynx et si les crachats proviennent réellement du sujet en observation (2). Au début de la tuberculose pulmonaire, dans la période latente, les crachats sont très peu bacillifères ; il y a lieu à ce moment de multiplier les examens directs ou de s'adresser à des méthodes plus rigoureuses, surtout si les signes cliniques, radiologiques et généraux sont d'accord pour faire porter le diagnostic de tuberculose pulmonaire.

Au cours d'une pleurésie séro-fibrineuse tuberculeuse, on doit multiplier les examens directs ; si ceux-ci sont toujours négatifs on pourra affirmer l'intégrité de la corticalité du poumon. Dans certaines formes de sclérose pulmonaire, d'emphysème pulmonaire, les crachats expectorés sont négatifs à l'examen direct ; c'est dans ces cas que l'on doit saisir l'occasion de certains événements qui conditionnent des décharges bacillaires (poussée fébrile légère, hémoptysie, période menstruelles) pour répéter les examens.

1. Jacob, *Examen des crachats tuberculeux* (*Journal médical français*, sept. 1913).

2. Voir note page 14.

CHAPITRE III

MÉTHODES D'ENRICHISSEMENT DES CRACHATS TUBERCULEUX EN BACILLES DE KOCH

Nous disposons actuellement de deux principales méthodes d'enrichissement des crachats tuberculeux en bacilles de Koch : 1° L'homogénéisation par les substances chimiques ; 2° L'autolyse des crachats à la chaleur.

Enrichissement des crachats par homogénéisation

L'homogénéisation des crachats tuberculeux est presque contemporaine de la découverte du bacille de Koch par l'examen direct, puisque c'est en 1886 que Biedert eut l'idée de concentrer un crachat sous un petit volume et de recueillir tous les bacilles qui y étaient contenus. L'examen microscopique direct répété, malgré les colorations les plus fines, est quelquefois impuissant à déceler le bacille de Koch contenu en petit nombre dans un crachat, et l'observation de ce fait avait frappé dès le début la plupart des expérimentateurs. Le volume d'un crachat étalé sur une lame ne dépasse pas un millimètre cube, beaucoup de crachats ne contiennent guère plus de dix bacilles par centimètre cube, c'est-à-dire un volume mille fois plus grand qu'un étalement, il est donc absolument indispensable de réunir sur une seule lame les rares bacilles contenus dans 2 ou 3 centimètres cubes de crachats.

C'est là le but que poursuivent toutes les méthodes d'homogénéisation. La recherche de ce résultat comporte deux phases, quelle que soit la méthode employée :

1° Détruire le stroma, la charpente de mucine dans laquelle les bacilles sont emprisonnés, immobilisés. Transformer ainsi cette masse visqueuse en une masse fluide homogène par un agent chimique ou physique.

Cette première partie constitue l'homogénéisation du crachat.

2° Collecter les bacilles épars dans le liquide homogénéisé soit à la surface de celui-ci, soit au contraire au fond du tube qui le contient.

Pour fluidifier les crachats on s'est adressé tantôt à des substances chimiques, tantôt à la chaleur, d'autres fois à des produits biologiques.

Pour collecter les bacilles on a pu au début les recueillir par sédimentation (procédé actuellement abandonné). Dans la majorité des cas on s'adresse maintenant à la centrifugation. Les bacilles de Koch sont collectés soit dans le culot de centrifugation, soit à la surface du crachat homogénéisé ; mais la collection des bacilles par centrifugation est dominée par des données physiques que MM. Bezançon et Philibert ont bien précisées. Pour s'assurer d'une bonne collection des bacilles à la surface du liquide ou dans le culot de centrifugation, il faut tenir compte de la différence de densité existant entre le bacille de Koch ($D = 1010-1080$) et la densité du crachat homogénéisé.

Les crachats fluidifiés par la lessive de soude, l'eau de chaux, l'ammoniaque, le carbonate de soude en solution à 0,60/0 ont une densité inférieure à 1010. Après centrifugation, tous les bacilles plus lourds que ces liquides tombent au fond du culot.

Les crachats fluidifiés par l'eau de Javel, l'antiformine pure ou très peu diluée, l'eau salée à 25 0/0, l'acide borique ont une densité supérieure à 1010. Pour faciliter la collection des bacilles à la surface du liquide et par centrifugation, on ajoute toujours un liquide visqueux et léger, la ligroïne, éther du pétrole, dont les fines gouttelettes adhèrent aux bacilles de Koch et les entraînent en haut, grâce à leur faible densité et à leur viscosité.

Les crachats fluidifiés par l'acide borique pur, par l'eau de chaux, l'acide phénique, ont une densité comprise entre 1010 et 1080, les bacilles flottent « entre deux eaux » ; on abaisse la densité du crachat homogénéisé en y ajoutant une petite quantité d'alcool à 95 degrés ; la collection se fait dans le culot du tube à centrifuger.

Classification des techniques d'homogénéisation

La classification que nous adoptons est celle qui a été précédemment employée par Ellermann et Erlandsen,

Bezançon et Philibert. Elle repose sur la nature de l'agent homogénéisateur du crachat. Nous ne citerons parmi les techniques anciennes que celles qui peuvent servir à expliquer la genèse d'autres plus simples et actuellement utilisées.

TECHNIQUES D'HOMOGENÉISATION PAR DES SUBSTANCES ALCALINES

Technique de Biedert (1). — Prendre 15 centimètres cubes de crachats, les mélanger à 30 centimètres cubes d'eau distillée froide, ajouter VIII à XV gouttes de lessive à 0,02 o/o. Faire bouillir dans une capsule en agitant progressivement, puis ajouter 60 à 90 centimètres cubes d'eau. Abandonner pendant quarante-huit heures à la température du laboratoire ce mélange dans un verre conique. Les crachats sont recueillis par sédimentation dans le culot. Décanter le liquide surnageant. Prélever le dépôt, étaler, colorer par la technique de Ziehl-Neelsen. Cette technique a été l'objet de perfectionnements surtout de la part d'Ellermann et Erlandsen et de la part de Bezançon et Philibert.

Technique d'Ellermann-Erlandsen (2). — Prélever 10 centimètres cubes de crachats, les mélanger avec 5 centimètres cubes de carbonate de soude à 6 o/o. Placer ce mélange vingt-quatre heures à l'étuve à 37 degrés. Centrifuger et décanter le liquide surnageant. Mélanger un volume du dépôt avec quatre volumes d'une solution de soude à 0 gr. 25 o/o. Agiter vigoureusement, chauffer légèrement. Centrifuger, prélever le nouveau culot après décantation, l'étaler sur lame. Colorer par la technique de Ziehl-Neelsen.

Technique de Bezançon et Philibert. — Mesurer la quantité de crachats dont on dispose ; mesurer une quantité d'eau distillée dix fois supérieure. Mettre le crachat et la moitié de l'eau dans une capsule de porcelaine, ajouter autant de gouttes de lessive de soude pure qu'il y a de centimètres cubes de crachats.

1. Biedert, *Berl. Kl. Woch.*, 18 oct. 1886.

2. Ellermann-Erlandsen, *Zeitschrift für Hygiene*, vol. LXI, p. 219.

3. Bezançon et Philibert, Société de Biologie, 10 janvier et 7 février 1903.

Chauffer légèrement pendant dix minutes sur la flamme du brûleur en agitant et en ajoutant l'eau restante. Laisser refroidir. Prendre la densité du liquide, ou à tout hasard, ajouter quelques centimètres cubes d'alcool à 60 degrés pour ramener la densité au-dessous de 999. Répartir dans quatre tubes à centrifugation. Equilibrer. Centrifuger trois quarts d'heure à trois mille tours à la minute.

Décanter, prélever le culot, l'étaler sur lame, le colorer par la technique de Ziehl-Neelsen.

On a simplifié cette technique pour l'adapter au travail en séries des dispensaires antituberculeux (1). On procède de la façon suivante :

Numéroter les crachoirs de 1 à 8 et porter sur un registre le nom du malade et le numéro correspondant, ce numéro est le même pour la capsule dans laquelle le crachat sera homogénéisé, pour la tare et pour le tube à centrifuger qui doit recevoir le crachat fluidifié. La capsule n° 1 est portée sur le plateau de la balance et équilibrée avec sa tare n° 1. Du côté de la tare mettre un poids de 2 grammes, équilibrer de nouveau avec un petit morceau de crachat venant du crachoir d'analyse n° 1. Verser 10 centimètres cubes de lessive de soude à 10/100, ce qui correspond à 11 gouttes de la solution normale.

Chauffer et agiter comme précédemment.

Ajouter 10 centimètres cubes d'eau distillée avec l'éprouvette et porter lentement jusqu'à l'ébullition sur le bain de sable. Refroidir et ajouter 5 centimètres cubes d'alcool à 60 degrés. Verser dans le tube à centrifuger n° 1. Refaire les mêmes manœuvres pour le crachat n° 2. Equilibrer le tube à centrifuger n° 2 avec le tube n° 1. Centrifuger quand les deux dernières homogénéisations sont terminées. Achèver par les colorations ordinaires.

Technique de Distaso (2). — Procédé simple dont le principe est le même que celui de Bezançon et Philibert. Placer un fragment de crachat sur une lame, ajouter une goutte de soude, avec l'aide de la chaleur le mélange est transformé en une masse gélatineuse qui est étalée sur la lame. Colorer les bacilles par la technique de Ziehl-Neelsen et le fond de la pré-

1. Bezançon, Philibert et Mathieu, *Adaptation de la technique d'homogénéisation de Bezançon et Philibert à l'usage des dispensaires* (*Revue de la Tub.*, 1921, n° 6).

2. Distaso, *Lancet*, 1920.

paration à l'aide du vert malachite (solution alcoolique saturée de vert malachite une partie, eau dix-neuf parties).

Technique de Guy-Laroche et Virmeaux (1). — Cette technique est analogue à celle de Bezançon et Philibert, mais alors que celle-ci exige une centrifugeuse, le procédé de Guy-Laroche et Virmeaux permet de s'en passer. Au moment de chauffer le crachat homogénéisé par la soude, ajouter du chlorure de sodium chimiquement pur à la dose de 0 gr. 25 par centimètre cube, agiter jusqu'à dissolution complète du chlorure de sodium. Verser le liquide dans un tube à centrifuger et après refroidissement ajouter quelques gouttes d'éther et de ligroïne à parties égales. Agiter vigoureusement en fermant le tube avec le pouce protégé par un papier plié en quatre. Laisser les bacilles se collecter lentement en six heures. Les rechercher à l'aide de l'anse de platine dans une petite couche grisâtre sous-jacente à la couche de ligroïne. Déposer les bacilles sur la lame, sécher à l'étuve à 37 degrés, flamber à l'alcool. Plonger la lame dans l'eau distillée et agiter jusqu'à dissolution du chlorure de sodium précipité. Colorer par la technique de Ziehl-Neelsen.

Technique de Fritz Ditthorn, Werner et Schultz (2). — Cette technique est basée encore sur l'homogénéisation par un alcalin, elle peut se dispenser de centrifugation. Diluer les produits d'expectoration dans leur volume d'eau distillée, puis additionner de la potasse à 15 o/o dans la proportion de 10 de solution pour 100 de crachats. Faire séjourner vingt minutes au bain-marie à 47 ou 50 degrés. Prélever 30 centimètres cubes du mélange homogène et ajouter 1 cmc. 5 à 2 centimètres cubes de liqueur oxyferrichloratée à 2 o/o. Le précipité formé dans lequel se trouve les bacilles est étalé. Colorer par la technique de Ziehl-Neelsen.

Technique de Kurt-Bauer (3), Brauer (4). — Mélanger un volume de crachats au même volume d'eau distillée. Agiter dans un matras de verre avec des perles. Ajouter quelques gouttes d'ammoniaque, chauffer à 50 degrés pendant vingt minutes. Ajouter par 10 centimètres cubes de crachats 0 cmc. 5 d'une solution de sulfate d'alumine à 10 o/o. Les bacilles sont

1. Laroche et Virmeaux. C. R. Biologie, 1918, p. 1085.

2. Fritz Ditthorn, Werner et Schultz, *Centralbl. für Bak.*, 31 mars 1917, n° 79.

3. Kurt Bauer, *Deutsche Med. Woch.*, 15 sept. 1918.

4. Schmitz Brauer, *Centralblatt für Bakt.*, 80, 1918.

contenus dans le précipité formé par le sulfate d'aluminium (Brauer). Etaler et colorer.

Si on dispose d'une centrifugeuse, après la formation du précipité, ajouter quelques centimètres cubes d'un mélange à parties égales d'alcool et de chloroforme. Agiter et répartir en tubes. Centrifuger. Prélever les bacilles au niveau de la couche moyenne.

Technique de Khouri (1). — La technique est semblable à celle de Bezançon et Philibert, mais le liquide homogénéisateur est le réactif d'Yvon pour le dosage de l'urée ou hypobromite de soude.

Préparer cette liqueur en mélangeant dans les proportions suivantes :

Brome	1 cc.
Lessive de soude	10 cc.
Eau distillée	10 cc.

Technique de Gorescu (2). — Nous signalons cette technique rapidement ; la complexité des manœuvres en empêche l'emploi courant.

Prendre 100 grammes de crachats, y ajouter 2 o/o d'acide acétique, agiter quinze à vingt minutes dans un matras Pasteur. Filtrer ensuite à travers la tarlatane. Mettre au bain-marie à 58 degrés trente minutes. Laver le coagulum formé à l'eau distillée, ajouter deux ou trois volumes d'eau distillée, puis une solution de soude caustique à 30 o/o jusqu'à alcalinisation du milieu qui apparaît lorsque la mucine vire au jaune translucide. Chauffer le liquide obtenu jusqu'à ébullition, le jeter sur un filtre. Recueillir le liquide filtré et le centrifuger. Laver le culot pour se débarrasser de l'excès de soude qui empêcherait l'adhérence à la lame. Etalement et coloration par la technique de Ziehl-Neelsen.

TECHNIQUE D'HOMOGENÉISATION S'ADRESSANT
A L'EAU DE JAVEL ET A L'ANTIFORMINE

La dissolution des crachats s'obtient très facilement avec de l'eau de Javel diluée et additionnée de soude, selon la technique indiquée dès 1902 par de Lannoise et Girard. Dix

1. Khouri, *Journal de Pharmacie et de Chimie*, 1921.

2. Gorescu, *C. R. Biologie*, 29 avril 1922.

ans plus tard toute une série d'auteurs allemands reprirent les travaux des deux Français en désignant sous le nom d'antiformine le mélange d'eau de Javel et de lessive de soude.

Technique de de Lannoise et Girard (1). — Prélever 5 centimètres cubes de crachats, les mélanger avec 50 centimètres cubes d'eau de Javel. Agiter, centrifuger et décantier. Sur le culot laisser tomber V à VI gouttes d'une solution de soude (40 gr. de Na OH par litre). Remplir le tube d'eau distillée. Centrifuger. Prélever le dernier culot et étaler. Colorer par la technique de Ziehl-Neelsen.

Technique de Uhlenhut et Xylander (2). — Mélanger le crachat avec une quantité, variable suivant sa consistance, d'antiformine à 15 o/o. Agiter énergiquement quelques minutes. Centrifuger. Étaler le culot. Colorer.

Technique de Lorentz (3). — Mélanger de 2 à 10 centimètres cubes de crachats avec le double ou le triple d'antiformine à 15 o/o. Agiter fortement jusqu'à homogénéisation complète. Chauffer jusqu'à émission des vapeurs (4). Centrifuger dix minutes et séparer le culot de centrifugation pour l'étaler sur lames. Ajouter II ou III gouttes d'acide acétique au 1/10 pour neutraliser l'excès d'antiformine.

Technique de Loeffler (5). — Même procédé que celui de Lorentz, mais pour faciliter la collection des bacilles dans le culot de centrifugation il ajoute quelques centimètres cubes d'un mélange à parties égales d'alcool et de chloroforme.

Technique du Professeur Calmette (6). — Mélanger dans un tube centrifugeur plusieurs centimètres cubes de crachats avec la même quantité d'une dilution d'antiformine à 30 o/o dans l'eau ou avec 5 à 10 volumes d'eau de Javel. Agiter vigoureusement pendant deux à trois minutes et laisser le tube à l'étuve à 37 degrés pendant une nuit ou quelques heures. Centrifuger. Le liquide surnageant est remplacé par un égal volume d'eau salée physiologique. Agiter et centrifuger de nouveau. Étaler le culot sur lame. Colorer.

1. *Presse médicale*, 5 mai 1902.

2. *Arb. K. K. Gesundheitsamt*, vol. XXXII, fasc. 1909.

3. Lorentz, *Berl. Klinik Wochenschrift*, 1911, p. 118.

4. Pour faire tomber les mousses après homogénéisation, il est quelquefois recommandé d'ajouter quelques centimètres cubes d'alcool à 90 degrés.

5. Loeffler, *Deutsche med. Wochenschrift*, 1910, n. 43.

6. Calmette, *Injection bacillaire et la tuberculose*. Masson, 1922.

Technique de Faisca (1). — Même procédé que celui de Distaso avec cette différence que la solution de soude est remplacée par une solution d'antiformine à 15 o/o.

TECHNIQUES D'HOMOGENÉISATION A L'ANTIFORMINE
COLLECTANT LES BACILLES DE KOCH
A LA SURFACE DU CRACHAT

Technique de Haserodt (1). — Prélever un volume de crachats, le mélanger à un volume triple d'une solution d'antiformine à 30 o/o. Laisser à l'étuve à 37 degrés pendant vingt-quatre heures. Ajouter 1 ou 2 centimètres cubes de ligroïne. Agiter, chauffer au bain-marie à 60 degrés pendant dix minutes. Prélever les bacilles avec l'anse de platine au niveau de la mince pellicule grisâtre.

Technique de Koslow (2). — La ligroïne est remplacée par un mélange d'éther et d'acétone.

Technique de Quelme et Houal (3). — Les crachats sont triturés dans 20 centimètres cubes d'antiformine à 40 o/o dans un verre à pied pendant une demi-heure.

Ajouter 20 centimètres cubes d'alcool à 60 degrés. Agiter le mélange, prendre la densité ou ajouter d'emblée quelques centimètres cubes supplémentaires d'alcool. Verser le tout dans une ampoule à décantation. Ajouter 20 centimètres cubes d'éther dans l'ampoule. Agiter deux ou trois de façon à rendre homogène. Laisser échapper les gaz par le bouchon supérieur. Après quelques instants de repos le contenu se sépare en deux couches, et lorsque le liquide inférieur est devenu très clair une pellicule se manifeste au point de séparation avec l'éther. Décanter la couche inférieure en ouvrant le robinet. Recueillir la couche bacillifère après avoir débouché l'appareil.

Technique de Darbès (4). — Prélever 10 centimètres cubes de crachats, les triturer avec deux fois leur volume d'eau de Javel ; s'ils sont plus épais chauffer légèrement.

Préparer une solution de chlorure de sodium chimique-

1. Faisca, C. R. Biologie, 1921, p. 1002-1003.

2. Haserodt, *Hygiene Rundschau*, 1909, n° 12.

3. Quelme et Houal, *Bulletin médical*, 1919, 24 mai, p. 271-273.

4. Darbès, thèse de Bordeaux, 1921-1922.

ment pur à saturation ($\Delta = 1204$) ou une solution d'hyposulfite de soude à 50 o/o ($\Delta = 1295$).

Répartir le crachats homogénéisés ($\Delta = 1035-1040$) dans des tubes à essai. Ajouter un volume égal de solution de chlorure de sodium ou d'hyposulfite de soude dans chacun des tubes. Agiter doucement. Ajouter un ou deux centimètres cubes d'éther. Agiter vigoureusement. Collecter les bacilles dans l'anneau blanchâtre superficiel sans centrifugation. Prélever à l'aide de l'anse de platine, étaler sur lame après avoir déposé une goutte d'huile de vaseline qui assure l'adhérence de la préparation.

TECHNIQUES D'HOMOGENÉISATIONS'ADRESSANT A DES SUBSTANCES
CHIMIQUES QUI PAR COMBINAISON DONNENT DE L'EAU DE JAVEL
OU DE L'ANTIFORMINE.

Technique de Bierry (1). — Prélever 5 centimètres cubes de crachats, ajouter de 2 à 5 centimètres cubes d'eau distillée suivant leur consistance, ajouter une goutte d'eau de Javel et de XX à XL gouttes de soude (solution à 1 o/o). Chauffer légèrement à 38 degrés pendant dix minutes en ajoutant la solution de soude jusqu'à fluidification. Prélever un volume de liquide fluidifié, le mélanger à un volume d'eau distillée, ajouter quelques gouttes d'acide acétique au 1/50, jusqu'à apparition du précipité. Agiter, centrifuger, étaler le culot. Colorer par la technique de Ziehl-Nelsen.

Technique en usage aux sanatoriums de Bligny. — Prendre un volume de crachats, le mélanger au même volume de lessive de soude à 1 o/o. Chauffer légèrement, ajouter une goutte d'eau de javel par centimètre cube. Répartir en tubes à centrifuger, ajouter à l'aide de la pipette quelques gouttes d'acide acétique au 1/10 jusqu'à apparition du précipité. Centrifuger, étaler le culot, colorer.

Technique de Cordonnier (2). — Le liquide homogénéisateur est l'histuduol, employé par les laboratoires d'armée durant la guerre. On le prépare de la façon suivante:

Faire une solution A avec :

Chlorure de chaux	25 gr.
Eau distillée	250 cc.

1. Bierry, C. R. Académie des Sciences, 1916, CLIII.

2. Cordonnier, *Bulletin des Sciences pharmacologiques*, 1917.

Mettre en contact trois heures, filtrer et laver le résidu avec 125 centimètres cubes d'eau distillée.

Préparer une solution B avec :

Carbonate de soude	50 gr.
Eau distillée	125 cc.

Mélanger les deux solutions, filtrer ensuite et compléter par 500 centimètres cubes d'eau.

Prélever dix centimètres cubes de crachats, les mélanger dans un ballon contenant des perles de verre à 5 centimètres cubes du liquide homogénéisateur. Laisser en contact jusqu'à homogénéisation. Collecter les bacilles en surface à l'aide de la ligroïne et par centrifugation.

Technique de Barberio (1). — Les auteurs se sont basés sur la réaction chimique



pour préparer de l'hypochlorite de soude.

Faire dissoudre d'une part 20 grammes de carbonate de soude dans 100 centimètres cubes d'eau tiède, préparer d'autre part une solution de 20 grammes de chlorure de chaux dans 50 centimètres cubes d'eau.

Mélanger les deux solutions, agiter constamment ; le liquide s'épaissit jusqu'à prendre la consistance de l'empois d'amidon puis il se forme un précité blanc pulvérulent qui se dépose rapidement. Filtrer au bout de dix minutes à deux reprises. Le liquide limpide est conservé dans un flacon coloré. Prélever 5 centimètres cubes de crachats, y ajouter 20 centimètres cubes de réactif, laisser en contact vingt-quatre heures. Centrifuger et colorer le culot.

TECHNIQUES D'HOMOGENÉISATION S'ADRESSANT A DES SUBSTANCES CHIMIQUES DIVERSES

Technique de Spehl (2). — Prélever un volume de crachat, le mélanger à cinq ou six volumes d'eau de chaux. Agiter vigoureusement, porter à l'étuve à 56 degrés jusqu'à homogénéisation. Centrifuger, étaler le culot, colorer.

1. Barberio, *Il Policlinico*, XXI, p. 126, 1914.

2. Spehl, C. R. Biologie, 1918, p. 250-251.

Technique de Giraud et Derrien (1). — Prélever un centimètre cube de crachat, le mélanger avec 10 centimètres cubes de pyridine, sous-produit tiré de la distillation des goudrons de houille, produit dangereux et malodorant. Laisser en contact dix minutes. Centrifuger, étaler le culot dont l'adhérence est médiocre.

Technique de R. Pfeiffer et Walter Robitschek (2). — Prélever 50 centimètres de crachats que l'on mélange à trois fois plus d'eau distillée. Chauffer jusqu'à homogénéisation. Prélever 8 centimètres cubes du liquide homogénéisé et y ajouter 2 centimètres cubes de la solution de mastic pour bactériologie :

Dissolution de mastic à 10/0 dans l'alcool à 95°..	5 cmc:
Eau distillée.....	20 —

Laisser à l'étuve, centrifuger, étaler le culot, colorer.

Technique de Koch (3). — C'est le procédé de Van Kelel. Prélever 10 à 15 centimètres cubes de crachats, les émulsionner avec 10 centimètres cubes d'eau distillée, ajouter 6 grammes d'acide phénique à 90 0/0. Agiter et laisser reposer. Centrifuger et décanner le liquide surnageant. Laisser sur le culot quelques gouttes de lessive de soude jusqu'à dissolution. Centrifuger de nouveau, prélever le nouveau culot, l'étaler et le colorer par la technique de Ziehl-Neelsen.

Enrichissement des crachats tuberculeux par autolyse

Lorsqu'on laisse séjourner des crachats à l'étuve, il arrive au bout de quelques heures que ces crachats se divisent en deux couches, l'une superficielle claire, l'autre profonde et opaque. Ce phénomène de séparation ou de digestion des crachats est connu sous le nom d'*autolyse*. Il se rattache d'ailleurs au phénomène biologique plus général du même nom. L'idée d'autolyser les crachats par la chaleur pour les fluidifier date de 1902, lors des premières recherches de von Philipp et de Sabrazès. C'est en 1922 que MM. Bezançon, Philibert et Mathieu reprirent ces expériences.

1. Giraud et Derrien, C. R. Biologie, 1916.

2. R. Pfeiffer et Robitschek, *Centralblatt für Bakt.*, LXXXVII, 1922, p. 27.

3. Koch, *Centralblatt für Bakt.*, 1919, 83, p. 351.

Voici d'après ces derniers auteurs la technique à adopter en vue d'enrichir en bacilles de Koch les crachats tuberculeux (1).

Verser 10 centimètres cubes de crachats tuberculeux dans un tube à centrifuger. Laisser séjourner le tube à l'étuve à 37 degrés pendant vingt-quatre heures ou quarante-huit heures. Le crachat paraît fluidifié et se sépare en deux couches distinctes, l'une supérieure liquide, l'autre inférieure, épaisse, constituée par des débris de cellules, de mucus plus ou moins digéré. Le crachat répand une odeur de putréfaction. Une goutte du liquide surnageant prélevée se montre très pauvre en bacilles tuberculeux et finit par ne plus en contenir du tout. Le culot prélevé avec une pipette fine et étalé sur une lame se montre très riche en bacilles, au début on y trouve des noyaux en voie de désintégration, plus tard les noyaux disparaissent. Le nombre des bacilles de Koch va en augmentant pour atteindre le maximum du quatrième au septième jour de séjour à l'étuve, puis il commence à décroître pour disparaître vers la sixième semaine.

Les crachats ont été aussi soumis à un séjour à l'étuve à 50 et à 70 degrés. A 70 degrés on obtient une coagulation en masse au bout de vingt-quatre heures, le coagulum flotte dans un liquide séreux, il n'y a pas à proprement parler de culot ; le nombre des bacilles de Koch n'est pas augmenté, même après plusieurs jours de séjour. Ce résultat n'est guère surprenant puisque les albumines des crachats sont coagulées à la température de 70 degrés et puisque les microbes et les ferments sont détruits à cette température.

A 50 degrés l'autolyse est obtenue plus rapidement qu'à 37 degrés, le culot de sédimentation renferme des bacilles tuberculeux qui vont en augmentant jusqu'à la cinquième semaine. Le résultat pratique est donc le même qu'avec l'étuve à 37 degrés.

A quoi attribuer la concentration en bacilles de Koch des crachats tuberculeux autolysés ? Il ne s'agit pas de multiplication réelle des bacilles de Koch, car le développement de ceux-ci est incompatible avec une température de 50 degrés. Il s'agit d'une sédimentation des bacilles due à une lyse d'origine non microbienne (puisque l'enrichissement se pro-

1. Bezançon, Philibert et Mathieu, C. R. Biologie, 1922, 25 mars-10 juin.

duit à 50 degrés), mais en réalité attribuable à des ferments provenant des leucocytes et encore actifs à 50 degrés.

Les bacilles trouvés dans le culot de sédimentation sont des bacilles de Koch, ainsi que le prouvent : 1° la concordance des résultats de l'enrichissement et de l'inoculation au cobaye ; 2° la concordance des résultats de l'enrichissement et des autres techniques d'homogénéisation ; 3° l'impossibilité aux autres acido-résistants de se développer à 50 degrés.

Autolyse des crachats tuberculeux en tubes couchés à 37 degrés. — On incline les tubes contenant les crachats sous un angle de 30 degrés ; vers le septième jour on les met verticalement afin d'assurer la sédimentation, on ajoute quelques gouttes d'eau distillée et d'alcool. Examiner après vingt-quatre heures.

Autolyse des crachats et homogénéisation du culot. — Cette technique permet une action plus rapide de l'antiformine que l'on emploie suivant la technique de Calmette ou celle de Lorentz.

Autolyse des crachats et homogénéisation de Renaux (1). — Stériliser les crachats à 120 degrés vingt minutes, les mélanger avec dix ou vingt fois leur volume d'une lessive de soude à 5 o/oo pendant cinq ou dix minutes. Centrifuger, étaler le culot, colorer. Despeignes se borne à stériliser les crachats à 120 degrés et à les centrifuger ensuite sans homogénéisation nouvelle (2).

Autolyse des crachats tuberculeux de Korbsch (3). — Mettre le crachat dans une boîte de Petri, le recouvrir d'une couche légère de glycérine à 4 o/o, l'abandonner pendant cinq à sept jours. Agiter ensuite la masse qui a changé de couleur et qui est devenue d'une consistance uniforme. Examiner plusieurs particules de la masse en ayant soin de ne pas trop étendre les particules de crachats ainsi fluidifiés.

1. Renaux, C. R. Biologie, Bruxelles, 1920.

2. Despeignes, C. R. Biologie, 1921, p. 182-183.

3. Korbsch, d'après Steich et Sietsch, *Medizinische Klinik*, n° 39, 24 septembre 1922.

Enrichissement des crachats tuberculeux en bâcilles de Koch par des produits biologiques

Certaines techniques emploient comme agents fluidificateurs des produits biologiques, en particulier les sucres digestifs.

Les procédés les plus anciens sont ceux de Spengler et de Jousset. Grysez et Bernard ainsi qu'Hirtsmann ont repris dernièrement ces études.

Technique de Spengler (1). — Mélanger à un volume de crachat, le même volume d'eau tiède alcalinisée par la soude. Ajouter à ce mélange de 10 centigrammes à 1 gramme de poudre de pancréatine. Porter le tout pendant vingt-quatre heures à l'étuve à 37 degrés, prélever le culot, l'étaler et le colorer.

Technique de Jousset (2). — Cet auteur emploie la technique précédente mais s'adresse à la pepsine, au lieu d'employer la pancréatine.

Technique de Grysez et Bernard (3). — Prélever un volume de crachat, le mélanger à 8 ou 10 volumes de bile stérilisée iodée (bile stérilisée de bœuf additionnée de 11 gouttes de teinture d'iode par centimètre cube). Laisser séjourner soit dix-huit heures à l'étuve à 37 degrés, soit trois heures au bain-marie à 56 degrés.

Ajouter après refroidissement un tiers du volume d'eau salée et 2 à 3 centimètres cubes d'éther. Centrifuger. Collecter les bâcilles à la surface du liquide, les prélever avec l'anse de platine. Etaler et colorer par la technique de Ziehl-Neelsen.

Technique d'Hirtsmann (4). — Mélanger dans les proportions suivantes :

Crachats.....	10 cmc.
Bile stérilisée.....	30 cmc.

Laisser à l'étuve à 55 degrés douze heures, ajouter ensuite 5 centimètres cubes d'alcool à 95 degrés pour séparer le culot. Centrifuger, prélever le culot, l'étaler et colorer par la technique de Ziehl-Neelsen.

1. Spengler, *Deutsche med. Woch.*, 1895, p. 244.

2. Jousset, cité par de Jong, *Traité de l'examen des crachats*.

3. Grysez et Bernard, *C. R. Biologie*, 1920.

4. Hirtsmann, *C. R. Biologie*, 1921, p. 203.

Valeur diagnostique des méthodes d'homogénéisation et d'enrichissement

Nous envisagerons successivement la valeur diagnostique des résultats positifs et des résultats négatifs obtenus par l'homogénéisation.

Cas positifs. — Dans la pratique journalière l'homogénéisation des crachats suspects permet de déceler le bacille de Koch très précocement dans les tuberculoses pulmonaires dites « de début » évoluant à bas bruit, là où le ramollissement pulmonaire est encore minime.

A l'opposé du cas précédent, l'homogénéisation infirme des diagnostics de guérison portés sur des tuberculoses pulmonaires dont les lésions sont seulement en voie de cicatrisation. Chez les bronchiteux chroniques, superficiels ou profonds, plus ou moins emphysémateux, le diagnostic de la tuberculose concomitante ou originelle est aussi bien masqué cliniquement que bactériologiquement. Là encore l'homogénéisation permet de découvrir la tuberculose cachée, et ceci est d'autant plus important que ces cas sont dangereux quand ils sont ignorés : ces porteurs de germes sont très souvent des sujets âgés qui vivent avec leur catarrhe au milieu d'individus sains, ils ne se soignent pas, n'en sentant pas la nécessité, gardent un état général satisfaisant et présentent à l'auscultation des ronchus, sibillances, râles ronflants autour d'une respiration soufflante ou des zones où la respiration est très diminuée.

Ailleurs, l'homogénéisation affirme la tuberculose là où cliniquement on croirait à une affection pulmonaire aiguë banale ; c'est en particulier le cas de ces poussées aiguës à type pneumonique ou broncho-pneumonique qu'ont décrites Bezançon et Braun ; elles s'accompagnent d'une expectoration minime et très peu bacillifère.

L'homogénéisation doit être toujours pratiquée sur les expectorations recueillies au cours d'une pleurésie séro-fibrineuse ; c'est en décelant la présence du bacille de Koch qu'elle indique l'atteinte de la corticalité.

Signalons enfin comme indispensable l'homogénéisation des crachats hémoptoïques « d'alarme », l'examen direct se montrant habituellement négatif dans ces crachats.

Cas négatifs. — La constatation de l'absence du bacille

de Koch dans les crachats après homogénéisation et centrifugation électrique est très importante dans un centre d'examen d'individus suspects de tuberculose pulmonaire ; il est souvent extrêmement difficile de savoir quelle décision prendre dans ces cas, notamment en ce qui concerne l'envoi au sanatorium. Il existe toute une catégorie de malades dont les expectorations sont négatives à l'homogénéisation, en particulier : les anémiques et les débilités qui trompent par leur apparence et par un examen radioscopique indiquant un voile des sommets, les tuberculeux guéris, ou du moins, pour être plus près de la vérité, les tuberculeux latents durables, les tuberculeux latents temporaires, les tuberculeux atténués ou abortifs chez lesquels les signes cliniques sont imprécis et difficilement traduisibles. Une observation de trois mois au sanatorium où sont exécutés plusieurs examens directs et homogénéisations permet de dire si l'infiltration retrouvée est cicatricielle.

On ne saurait pas davantage considérer comme tuberculeux après homogénéisation négative : 1° les *gazés* qui souvent ont l'apparence de tuberculeux, surtout lorsqu'ils présentent une cortico-pleurite ou congestion pulmonaire chronique à tendance extensive accompagnée de troubles graves, dyspnée, hémoptysies, état fébrile faisant croire à une tuberculose pulmonaire ; 2° les scléroses diffuses avec emphysème, les dilatations des bronches qui peuvent simuler la tuberculose chez les malades débilités, amaigris et anémiés (1).

Les faits que nous venons de présenter suffisent amplement à mettre en relief l'intérêt de la recherche du bacille de Koch par homogénéisation. Cet intérêt réside surtout dans la rapidité des réponses de cette méthode, car nous ne nions pas que l'examen direct correctement fait et répété à intervalles réguliers obtient les mêmes résultats.

CRITIQUES DE L'HOMOGENÉISATION ET DE L'ENRICHISSEMENT

L'homogénéisation de même que l'examen direct est passible de critiques multiples. Elle peut dans certains cas se montrer inférieure à celui-ci, ce qui nous empêche d'approu-

1. Albert Bezançon et A. Philippe, n° 2, 1923. *Revue de la Tuberculose*.

ver la pratique d'emblée de l'homogénéisation, à moins que celle-ci ne soit faite parallèlement à un examen direct.

On ne doit donc pas s'écarter des conseils déjà formulés par Bezançon il y a dix ans : Examen direct d'abord, et si l'examen direct est négatif, avoir recours à l'homogénéisation.

Les résultats de l'homogénéisation peuvent être influencés par deux causes : 1^o la présence des acido-résistants ; 2^o les risques de contamination extérieure, si tous les temps de l'homogénéisation n'ont pas été exécutés proprement et dans une verrerie irréprochable.

Les techniques d'autolyse des crachats à la chaleur donnent lieu à des critiques encore plus sérieuses. La destruction cellulaire, même après un séjour de sept jours à l'étuve, est souvent insuffisante, le bacille de Koch coloré en rouge par la fuchsine se détache mal du fond de la préparation, qui est toujours épaisse si l'on veut obtenir une multiplication bacillaire un peu importante.

Les étalements de crachats autolysés, sur des lames ayant séjourné dans la solution aqueuse d'acide chlorhydrique puis ayant été flambées à l'alcool, sont sujets encore à se décoller même au cours de la coloration à froid par la technique de Ziehl-Neelsen.

L'autolyse des crachats entraîne une odeur de putréfaction très intense qui peut rendre impossible le séjour au laboratoire.

Les crachats autolysés à 50 degrés ne présentent pas cet inconvénient, mais ils nécessitent l'immobilisation d'une étuve à cette température.

CHAPITRE IV

INOCULATION DES CRACHATS TUBERCULEUX AUX ANIMAUX

Lorsque les produits pathologiques suspects n'ont présenté de bacilles de Koch ni à l'examen direct ni par d'autres méthodes bacilloscopiques, on peut avoir recours comme moyen de contrôle définitif à l'inoculation de ces produits, et plus particulièrement des crachats, aux animaux. En dépit de quelques difficultés matérielles, cette méthode diagnostique doit être employée systématiquement dans les cas douteux ; son emploi tend d'ailleurs à se généraliser de plus en plus. L'inoculation expérimentale des produits pathologiques est une des recherches les plus courantes du laboratoire. Quelques animaux réagissent plus précocément que d'autres vis-à-vis de tel ou tel virus ; la souris blanche meurt en trois jours lorsqu'elle a été inoculée avec des crachats de pneumonique ; dans le sang on retrouve le pneumocoque à l'état de pureté. Le cobaye est le réactif par excellence du bacille tuberculeux. En raison de sa réceptivité toute spéciale pour la tuberculose cet animal est devenu extrêmement précieux pour les recherches de phthisiologie expérimentale. On peut poser en principe que tout cobaye injecté avec un produit renfermant du bacille de Koch contracte la tuberculose et succombe. A cette extrême sensibilité s'ajoutent d'autres avantages tels que, un élevage assez facile, une reproduction rapide et vigoureuse.

Technique de l'inoculation sous-cutanée. — L'inoculation des crachats suspects se fait d'ordinaire par la voie sous-cutanée. Choisir un cobaye âgé de plus de deux mois, robuste, pesant au moins 300 grammes, mâle. Écarter les femelles en gestation, l'inoculation risquant de provoquer l'avortement.

Peser l'animal avant l'inoculation, noter sa température rectale (1). S'il a voyagé le faire reposer pendant quatre ou cinq jours. Dresser une fiche signalétique du pelage de l'ani-

1. La température normale du cobaye est 38°5.

mal pour le reconnaître de ses voisins. Les cobayes blancs sont différenciés par des taches de colorants faites sur le dos.

Préparation du crachat à inoculer. — Laver le crachat plusieurs fois à l'eau physiologique pour le débarrasser des germes d'association microbienne, le dissocier dans 10 centimètres cubes d'eau physiologique, agiter pour émulsionner. Pour inoculer se servir de la seringue de Pravaz de 5 centimètres cubes, stérilisée toute montée, avec une grosse aiguille courte dans un tube essai. Aspirer avec cette seringue 5 centimètres à cubes de l'émulsion.

Contention de l'animal. — L'animal est maintenu couché sur l'appareil de contention (petit modèle courant), épiler une petite surface de la face interne de la cuisse droite ou gauche. Aseptiser à la teinture d'iode.

Inoculation du crachat. — Injecter 3 ou 4 centimètres cubes de l'émulsion dans la peau de cette région comme si l'on pratiquait une injection sous-cutanée ordinaire. Ne pas malaxer la boule d'œdème. Toucher le point d'inoculation avec une goutte de teinture d'iode.

Placer l'animal dans une cage individuelle.

Après l'inoculation, tous les instruments ayant été souillés par des produits suspects sont désinfectés par l'ébullition à l'eau carbonatée pendant vingt minutes.

Etude clinique de la tuberculose du cobaye

Tous les symptômes observés sont notés sur une fiche d'observation tenue à jour. Noter la température rectale deux fois par jour, le poids tous les huit jours, observer l'habitus extérieur, l'aspect du pelage. Les jours qui suivent l'inoculation sont mauvais pour le cobaye. Sous l'influence du schok l'animal reste blotti dans un coin de sa cage, il refuse les aliments ; progressivement l'activité renaît, l'aspect extérieur devient meilleur, on peut même noter une légère augmentation de poids.

Localement au point d'inoculation, vers le dixième jour, apparaît une légère inflammation, il y a un peu d'œdème, en palpant la région inguinale on peut quelquefois percevoir dès ce moment un ganglion dur gros comme un grain de chènevis, mais qui s'accroît par la suite rapidement pour atteindre le volume d'une noisette. Vers la troisième semaine, l'état général commence à péricliter, l'animal maigrit, le poil

tombe, localement à la palpation on réveille une douleur nette, il y a de l'empâtement de toute la région inguinale, le ganglion devient fluctuant et finit par s'ouvrir, le contenu purulent se vide complètement, mais il persiste une fistule intarissable. A partir de ce moment l'amaigrissement est progressif et continu, l'appétit est nul, le poil se hérisse, les côtes sont apparentes, les flancs se creusent, la respiration s'accélère, la température qui jusqu'alors était restée normale autour de 38°5 s'élève à 39°5. L'infection bacillaire se généralise rapidement, les ganglions lombaires puis les ganglions thoraciques s'engorgent à leur tour, le foie et la rate doublent de volume et sont facilement perceptibles à travers la paroi abdominale; l'animal finit par succomber dans l'asphyxie et la cachexie vers le deuxième ou troisième mois.

Telle est l'évolution classique de la tuberculose du cobaye inoculé avec des crachats assez riches en bacilles, mais dans les cas qui nous intéressent spécialement c'est-à-dire ceux où les crachats se sont montrés très peu riches en bacilles, l'évolution de la tuberculose du cobaye est alors fort longue, l'animal conserve un état général parfait pendant des mois; les signes cliniques se traduisent seulement par la présence d'un ganglion hypertrophié dans la région inoculée, quelquefois il peut se développer un petit abcès n'ayant aucune tendance à se fistuliser, mais tout d'un coup sous l'influence de causes diverses l'infection peut se généraliser et revêtir le tableau classique.

MM. Debré et Paraf (1) ont montré que la tuberculose chez un cobaye de poids élevé donnera des réactions locales intéressantes alors que chez les petits animaux la tuberculose a des réactions générales qui sont souvent difficiles à distinguer des réactions générales dues aux infections secondaires. Ces remarques sont donc très utiles à connaître puisqu'elles montrent l'importance du choix de l'animal à inoculer.

Diagnostic de la tuberculose du cobaye

Lorsqu'un cobaye inoculé avec des crachats suspects présente l'évolution clinique classique que nous avons décrite,

1. Debré et Paraf, C. R. Biologie, 3-10-7 mai 1920.

on peut être certain dans la majorité des cas qu'il a contracté la tuberculose. On peut en avoir la certitude en s'adressant à différents procédés de diagnostic, dont le plus important est la vérification des lésions anatomiques par l'autopsie de l'animal.

Technique de l'autopsie du cobaye. — Si on soupçonne au delà du deuxième mois que l'animal est infecté par le bacille de Koch on peut le sacrifier, soit en lui sectionnant les deux carotides soit en l'asphyxiant sous la cloche à gaz. Qu'il ait succombé spontanément ou que la mort ait été provoquée, les plus grandes précautions d'asepsie sont à prendre au cours de l'autopsie du cobaye suspect de tuberculose.

Les instruments sont bouillis avant et après l'opération. On se sert : d'une paire de ciseaux droits, d'une sonde cannelée, d'un bistouri et d'une pince à griffes. Il est prudent de se munir d'une ou deux boîtes de Pétri stérilisées et destinées à recevoir des organes intéressants à examiner plus attentivement (foie, rate, poumons, ganglions).

L'animal est placé sur le dos dans un plateau de zinc rectangulaire et à bords relevés, percés de trous, il est maintenu fixe à l'aide de ficelles s'attachant d'une part aux pattes et d'autre part aux orifices des bords du plateau.

Tirer à l'aide du bistouri une incision médiane mento-pubienne, n'intéressant que la peau ; à l'aide des ciseaux achever cette incision, ouvrir la cavité abdominale, puis tirer deux incisions latérales le long des rebords costaux droit et gauche, ouvrir la cavité thoracique en coupant les côtes latéralement et en relevant le plastron sterno-costal vers le menton.

Le péritoine et la plèvre contiennent toujours une petite quantité de liquide.

Les organes abdominaux sont prélevés avec soin et examinés tant au point de vue macroscopique qu'au point de vue microscopique. Le foie est énorme, bosselé avec de multiples petits foyers caséux arrondis ou irréguliers d'un blanc jaunâtre. La rate est hypertrophiée, farcie de nodules caséux, dessinant à sa surface une mosaïque de grains jaunâtres. Les reins sont décolorés, les capsules surrénales sont très augmentées de volume, d'une couleur bleuâtre, nacréée. Sur les deux poumons on constate un semis de tubercules disséminés partout, généralement plus abondants aux lobes postérieurs. Ces tubercules sont les uns très petits, grisâtres, les autres

gros comme une tête d'épingle avec un point blanc au centre et une zone transparente à la périphérie. Les parties voisines du tissu pulmonaire sont partiellement hépatisées. Les ganglions trachéo-bronchiques sont conglomérés, ils forment un amas volumineux enserrant la trachée au niveau de la ramification des bronches, leur centre est ramolli et caséeux. On trouve quelquefois de petits ganglions caséeux de chaque côté du sternum et sur la voûte diaphragmatique.

Un fragment de chacun de ces organes est prélevé, étalé entre lame et lamelle, puis coloré par la technique de Ziehl-Neelsen. Les bacilles de Koch pullulent surtout au niveau des ganglions lymphatiques caséifiés.

DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL DE LA TUBERCULOSE DU COBAYE
D'AVEC LA PSEUDO-TUBERCULOSE OU MALADIES DE MALASSEZ
ET VIGNAL (1).

Dans la majorité des cas en présence du tableau clinique tel que nous l'avons exposé et surtout en présence des lésions anatomiques précitées, on est en droit de poser le diagnostic de tuberculose expérimentale chez le cobaye. Mais dans des circonstances assez rares des doutes peuvent surgir, deux diagnostics sont alors à envisager, celui de tuberculose expérimentale et celui de pseudo-tuberculose.

Au point de vue clinique, on peut décrire quatre formes à cette dernière infection : l'une classique où dominant la cachexie, la maigreur et l'hypertrophie des ganglions ; la deuxième à allure septicémique se traduisant par une immobilité de l'animal qui reste agité seulement par de petits tremblements intermittents, le dos voûté, le poil hérissé. La mort est rapide en quarante-huit heures par asphyxie. La troisième forme est ganglionnaire, l'engorgement prédominant surtout au niveau des ganglions de la région cervicale et sous-glossienne. La quatrième forme est la plus importante à connaître, c'est une forme latente qui expose à des erreurs anatomo-pathologiques au cours des autopsies de cobayes inoculés avec des crachats suspects, il est donc très important de connaître les lésions anatomiques déterminées par la Maladie de Malassez et Vignal.

1. Rannon, *Etudes sur la pseudo-tuberculose du cobaye. Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXVIII, p. 585.

Le pseudo-tubercule est moins bien délimité que le tubercule vrai. Son contenu est uniformément caséeux et d'une couleur blanc sale alors que celui de la tuberculose est uniformément caséeux, mais d'une teinte jaunâtre plus ou moins accusée.

L'hypertrophie des ganglions mésentériques que l'on observe si fréquemment soit seule soit associée à d'autres lésions, ainsi que les adénites cervicales sont pathognomoniques de la pseudo-tuberculose. L'examen microscopique des lésions anatomiques peut s'imposer quelquefois pour déceler au niveau des lésions anatomiques soit la présence du bacille de Koch soit celle du bacille de Malassez et Vignal.

L'agent pathogène de la pseudo-tuberculose est un coccobacille, isolé mais le plus souvent disposé en diplo. M. Nicolle lui attribue un aspect en « nœud de ruban » dû à la présence de vacuoles à la périphérie de chacun des germes en diplo. Dans les formes latentes le bacille est en très grande quantité, il est plus rare dans les formes jeunes, enfin il n'est trouvé qu'avec difficulté dans les pseudo-tubercules caséeux.

Autres procédés de diagnostic de la tuberculose du cobaye

Recherche du bacille de Koch au niveau des ganglions inguinaux fistulés. — Vers la quatrième semaine suivant l'inoculation des crachats, le ganglion inguinal suppure, on recueille un peu de pus crémeux à l'aide du fil de platine, on l'étale sur une lame, on le fixe à 37 degrés pendant dix minutes, on le colore par la technique de Ziehl-Neelsen ; à l'examen direct la préparation fourmille de bacilles de Koch.

Avant même la fistulisation, on peut ponctionner aseptiquement le ganglion, examiner directement le pus ou l'ensemencer sur milieu de Pétrof.

Diagnostic de la tuberculose du cobaye par les réactions tuberculiniques

Récemment Debré et Bonnet (1) ont montré les avantages que l'on pouvait retirer de la cuti-réaction tuberculinique chez les cobayes tuberculisés expérimentalement.

1. Debré et Bonnet, C. R. Biologie, 4 mars 1922

La technique de la cuti-réaction est semblable à celle que l'on emploie dans l'espèce humaine, elle se pratique sur la face externe de la cuisse épilée sur une petite surface. Par cette méthode le diagnostic peut être porté dès la troisième semaine.

Hermann Müller (1) préconise l'intradermo-réaction ; il injecte à la face externe de la cuisse 0,02 de tuberculine brute ou 0,1 de tuberculine A T au 1/5. Quand la réaction est positive, on note une infiltration de tous les tissus de la cuisse ; les symptômes durent vingt-quatre heures et disparaissent en quarante-huit heures. Le diagnostic de tuberculose expérimentale peut être porté également dès la troisième semaine.

Autres techniques d'inoculation des crachats tuberculeux au cobaye

L'infection tuberculeuse expérimentale peut être réalisée par d'autres voies que la voie sous-cutanée. C'est ainsi que l'on utilise :

- 1° La voie transcutanée ;
- 2° La voie transpéritonéale ;
- 3° La voie intrahépatique ;
- 4° La voie intrasplénique ;
- 5° La voie intramammaire.

Technique de l'inoculation par voie transcutanée. — On épile une surface variable de la partie supérieure du cou de telle sorte que le cobaye ne puisse pas se lécher. On étend avec une spatule les crachats tuberculeux sur la surface fraîchement rasée ou épilée.

TECHNIQUES DES INOCULATIONS INTRA-PÉRITONÉALE, INTRA-HÉPATIQUE, INTRA-SPLÉNIQUE

Ces techniques exigent une préparation spéciale des crachats telle qu'Aubertin et Fontan (2) l'ont exposée. Elles reposent en partie sur le principe de Pétroff pour ensemen-
cer les crachats tuberculeux sur milieu électif. Le crachat bacillaire est additionné de deux fois son volume de

1. Müller Hermann, *Centralblatt für Bakt.* 84, 1921.

2. Aubertin et Fontan, C.R. Biologie, 20 janv. 1923, t. XXXVIII.

solution stérile à 4 o/o de soude. On laisse en contact vingt à trente minutes à l'étuve à 37 degrés après avoir agité. On neutralise le liquide en ajoutant goutte à goutte la quantité juste de suffisante d'acide chlorhydrique à 10 o/o en présence phénolphtaléine. Le liquide ainsi neutralisé est ensuite additionné d'une solution à 1 o/o dans l'alcool ou l'eau distillée de violet de gentiane en quantité telle que le mélange contienne environ 1 pour 5.000 de ce principe colorant. Centrifuger, décanner, diluer le culot qui peut être inoculé.

Inoculation intra-péritonéale. — Le cobaye est couché sur le dos et immobilisé, on l'épile sur une étendue de deux à trois centimètres carrés à droite ou à gauche de l'ombilic. On aseptise la région avec de la teinture d'iode. On enfonce l'aiguille à inoculation d'un coup sec en la faisant pénétrer verticalement dans la paroi abdominale. On s'assure ensuite que l'aiguille est mobile en tous sens et on pousse doucement l'injection de un à deux centimètres cubes. On retire brusquement l'aiguille ; on termine en touchant le point d'inoculation à la teinture d'iode..

L'inoculation intra-péritonéale entraîne une généralisation rapide de la tuberculose aux viscères abdominaux, puis aux viscères thoraciques avec engorgement suivi de caséification des ganglions rétro-sternaux ; il y a également formation d'amas de tubercules caséeux sur l'épiploon.

Inoculation intra-hépatique. — L'inoculation intra-hépatique peut se pratiquer en trois points : 1° à droite dans l'angle formé par l'appendice xyphoïde et le rebord costal ; 2° à gauche en un point symétrique ; 3° sur la ligne mamelonnaire droite au rebord costal. On enfonce pour cette dernière inoculation l'aiguille à deux centimètres alors que pour les deux précédentes on ne l'enfonce que de un centimètre *un quart*. On a soin de diriger l'aiguille obliquement vers le haut afin de ne pas transpercer le foie de part en part, on s'assure à la vue que l'aiguille est dans le tissu hépatique lorsqu'elle suit les mouvements respiratoires.

Par cette technique le foie est rapidement farci de tubercules caséeux ; l'animal succombe avant que les autres organes soient infectés.

Inoculation intra-splénique. — On découvre la rate par laparotomie et on pousse l'inoculation à ciel ouvert.

Technique de l'inoculation intra-mammaire. — Cette

technique exige une femelle en lactation. Pour éviter l'infection de la mamelle par les germes d'infection secondaire Nattan-Larrier (1) chauffe à 54 degrés deux jours de suite pendant une heure l'émulsion de crachats à inoculer. On pratique l'inoculation à la base de la mamelle en plein tissu glandulaire. L'infection se traduit rapidement vers le dixième jour : 1° par la pullulation des bacilles que l'on retrouve en abondance dans le lait ; 2° par un engorgement des ganglions lymphatiques rétromammaires.

C'est une technique spendieuse qui peut être remplacée avec avantage par l'inoculation intra-hépatique.

Inoculations des crachats tuberculeux aux singe, lapin, rat (2). — Le singe présente la même sensibilité que le cobaye vis-à-vis du bacille tuberculeux.

Le lapin est plus résistant au bacille tuberculeux humain, c'est par contre le réactif du bacille tuberculeux bovin.

Les rats blancs sont peu sensibles à l'inoculation tuberculeuse. Les lésions les plus graves sont obtenues par inoculation intra-cutanée au niveau du coussinet plantaire. Il faut répéter les inoculations virulentes à courts intervalles pour tuberculiser l'animal. L'infection peut évoluer sans provoquer de lésions visibles. Les bacilles tuberculeux se trouvent dans le foie et la rate en grande abondance.

Critiques de l'inoculation des crachats tuberculeux aux animaux

Cette méthode, particulièrement en ce qui concerne le cobaye, est passible de diverses critiques. Ces critiques sont de deux ordres : ordre économique, ordre scientifique.

Critiques d'ordre économique. — Le cobaye est actuellement un animal cher tant par son prix d'achat que par la dépense relative à son entretien. De plus il faut injecter au moins deux cobayes avec le même échantillon de crachat pour en conserver un si l'un des deux vient à disparaître.

Pour éviter les chances de contamination l'animal injecté doit être conservé en cage individuelle. Dans ces conditions les erreurs de cage sont toujours possibles, par exemple lorsque les animaux ont été retirés pour le renouvellement

1. Nattan-Larrier, Société de Biologie, 1^{er} décembre 1900.

2. Bocquet et Nègre, *Annales Institut Pasteur*, n° 2, février 1921.

de leur litière. On comprend donc que la pratique des inoculations expérimentales sur une grande échelle exige des locaux importants. D'une manière générale les considérations économiques feront réserver la méthode pour des cas exceptionnels, comme par exemple lorsque les autres méthodes bacilloscopiques plusieurs fois répétées n'auront pas révélé la présence du bacille de Koch dans les crachats.

Critiques d'ordre scientifique. — Le résultat diagnostique fourni par l'inoculation au cobaye est toujours fort long, il faut souvent attendre plusieurs mois dans les cas douteux avant d'affirmer qu'un animal n'a pas été tuberculisé. Les germes d'infection secondaire déterminent souvent une réaction locale rapide et importante sous forme d'abcès qui s'ouvre spontanément en évacuant la totalité de la matière injectée. En plus de la réaction locale, il peut se produire une réaction générale entraînant la mort le plus souvent par gangrène gazeuse et ceci dans la proportion de 15 0/0 (Huguenin) (1).

Nous avons signalé précédemment la confusion possible entre la tuberculose nodulaire type Villemin et la pseudo-tuberculose de Malassez.

Enfin, avant de pratiquer l'inoculation au cobaye, il faut également s'assurer chez l'animal de l'absence d'une tuberculisation antérieure.

En résumé, malgré ces multiples objections, si l'on se met à l'abri des causes d'erreurs ou d'insuccès, la méthode d'inoculation au cobaye reste une des meilleures pour la recherche du bacille tuberculeux dans les crachats.

1. Cité par Técon. Thèse de Genève, 1911.

CHAPITRE V

CULTURE DU BACILLE DE KOCH CONTENU DANS LES CRACHATS

Le bacille tuberculeux ayant été mis en évidence soit par les méthodes d'examen direct ou d'homogénéisation soit par l'inoculation aux animaux, il y a lieu dans certains cas d'en connaître les propriétés biologiques et à cet effet de l'isoler, sur milieu électif de culture, des crachats ou des tissus qui le recèlent. Quelquefois même cette méthode accessoire peut mettre en évidence l'élément spécifique lorsque les méthodes précédentes ont été impuissantes à le déceler.

Les premières cultures du bacille tuberculeux furent faites par Koch sur sérum sanguin solidifié (sérum de veau ou de mouton). Roux et Nocard en 1887 essayèrent comme milieu de culture la gélose glycinée. Depuis cette époque un grand nombre d'autres milieux de culture ont été proposés, la plupart permettent seulement le développement du bacille de Koch isolé à l'état de pureté.

Les milieux électifs de culture

Nous n'étudierons ici, pour conserver à ce travail son caractère essentiellement pratique, que les milieux électifs de culture permettant d'isoler le bacille de Koch contenu dans les produits pathologiques qui renferment d'autres microbes. Parmi ces milieux de culture figurent ceux à base d'œufs et ceux à base de pommes de terre. Quelle que soit leur composition, pour obtenir une culture du bacille de Koch contenu dans les crachats, il est de toute nécessité de faire subir aux expectorations avant de les ensemencer sur milieu électif les deux manipulations suivantes : 1° destruction des germes d'association secondaires ; 2° concentration des bacilles de Koch par centrifugation.

Milieu de culture à base d'œufs

Milieu de Dorset (1902) (1). — Le milieu de Dorset est le plus simple de tous les milieux à base d'œufs ; c'est sur lui qu'ont été fondées toutes les recherches de Pétroff Griffith et Lyall, ces auteurs n'ayant fait qu'y apporter quelques modifications ou additions.

Préparation du milieu de Dorset. — Laver des œufs de poule, les brosser soigneusement dans l'eau bouillie, puis les immerger pendant quinze minutes dans l'alcool à 70 degrés, les saisir entre deux feuilles de papier buvard stérilisées, flamber leurs deux pôles et avec une pince flambée, pratiquer sur chacun de ces pôles une ouverture. Au moyen d'un tube de caoutchouc portant un filtre à coton stérilisé souffler par l'ouverture supérieure correspondant à la chambre à air, faire ainsi tomber le contenu de l'œuf dans un matras stérile, préalablement taré. Introduire une quantité d'eau correspondant à 10 o/o du poids de l'œuf, agiter pour assurer le mélange homogène du jaune, du blanc et de l'eau sans faire de bulle d'air. Jeter le tout dans un entonnoir stérile recouvert de papier portant une tarlatane stérile et répartir aseptiquement la masse filtrée dans des tubes à essai. Coaguler au thermostat à 70 degrés pendant deux heures en position inclinée, porter les tubes à l'étuve à 37 degrés pendant trois jours afin de rejeter ceux qui seraient contaminés. Obturer finalement avec des capuchons de caoutchouc et conserver en position verticale jusqu'au moment de leur ensemencement.

Milieu de Lubenau (2). — Lubenau préconise le milieu de Dorset mais il modifie sa préparation en additionnant le contenu de chaque œuf de 30 o/o de son poids de bouillon alcalin glycérimé à 5 o/o.

Milieu de Bezançon et Griffon (3). — Ces auteurs utilisent le jaune seulement, qu'ils incorporent à l'état cru à de la gélose glycérimée dans la proportion de 1 de jaune pour 2 de gélose.

Les techniques dont disposaient les premiers expérimenta-

1. Dorset; *Journal of american medecine*, 1902, p. 555.

2. Lubenau, *Hygien Rundschau*, 1907, p. 1455.

3. Bezançon et Griffon, *C. R. Biologie*, 9 mai 1903.

teurs pour détruire les germes d'association secondaire étaient très rudimentaires ; de ce fait les contaminations des cultures étaient fréquentes. Sur milieu de Dorset les colonies tuberculeuses ont un aspect diffus, blanc grisâtre, elles sont peu surélevées, alors que sur milieu de Lubenau ou de Bezançon elles sont plus isolées, saillantes et plus volumineuses.

Milieu de Pétroff (1). — Le mérite des recherches de Pétroff est d'avoir fixé les règles de la destruction des germes associés au bacille de Koch dans les crachats et d'avoir incorporé au milieu à l'œuf d'autres substances nutritives et surtout le violet de gentiane qui interdit le développement des germes saprophytes qui auraient pu échapper à la destruction préliminaire.

Le milieu de Pétroff est un milieu solide de couleur lilas, sa préparation, assez délicate, a été bien exposée par Limousin. Voici les différents détails techniques donnés par cet auteur (2).

1° Préparation des œufs. — Prendre douze œufs, les désinfecter par immersion de trente minutes dans l'alcool à 70 degrés, les essuyer comme pour le milieu de Dorset. Les manipuler avec des gants stérilisés ou avec les mains nues mais extrêmement propres, les battre quinze minutes comme pour faire une omelette. Filtrer le produit sur de la gaze stérilisée dans un récipient stérile.

2° Préparation de la macération de viande. — Prendre une tranche de veau frais à conserver à la glacière s'il ne doit pas servir tout de suite. Hacher avec un hachoir stérilisé au four à flamber. Faire macérer à la glacière pendant une nuit la préparation suivante :

Viande de veau écrasée.....	250 gr.
Eau distillée.....	212 —
Glycérine stérilisée.....	37 gr. 5

Filtrer le lendemain sur gaze stérilisée ;

3° Préparation du milieu de culture. — Mélanger le filtrat d'œuf avec la macération de viande glycinée dans les proportions suivantes :

Filtrat de veau.....	100 gr.
Filtrat d'œuf.....	200 —

1. Petroff, *Johns Hopkins Hospital Bulletin*, 1915.

2. Limousin, *Annales de l'Institut Pasteur*, août 1921.

Ajouter à ce mélange la solution de violet de gentiane à la dose de 1 centimètre cube pour 100 centimètres cubes de milieu (solution alcoolique de violet de gentiane à 1 o/o). Agiter, répartir en tubes, capuchonner et coaguler en inclinant les tubes :

- 1° A 85 degrés, trente minutes le premier jour.
- 2° A 75 degrés, trente minutes le deuxième jour.
- 3° A 75 degrés, trente minutes le troisième jour.

Eprouver deux jours à l'étuve à 37 degrés.

Technique de l'ensemencement de crachats sur milieu de Pétroff. — Avant d'ensemencer les crachats sur ce milieu, il faut les fluidifier, concentrer les bacilles et détruire les germes associés au bacille de Koch. Prélever 5 centimètres cubes de crachats, les mélanger à une solution de soude à 4 o/o à raison d'un ou deux volumes de soude pour un volume de crachats suivant la consistance. Agiter et porter une demi-heure à l'étuve à 37 degrés.

Centrifuger pendant trois quarts d'heure à 3.000 tours à la minute sans addition d'alcool. Décanter puis acidifier le culot légèrement avec de l'acide chlorhydrique dilué à 4 o/o jusqu'à ce qu'on obtienne une réaction acide au tournesol. Terminer en ensemençant le culot sur cinq tubes de culture. L'ensemencement se fait soit avec l'anse, soit avec la pipette. Laisser un jour le tube incliné dans l'étuve. Au bout de trois semaines les colonies de bacilles de Koch se reconnaissent sans le secours du microscope, les colonies jeunes sont circulaires, de couleur violette, dépolies, surélevées, plus foncées au centre. Les colonies plus âgées sont jaunepaille, au bout de deux jours le centre devient jaune ; en plein développement elles sont jaunepaille chagriné.

Les produits riches en bacilles donnent des colonies nombreuses qui se développent rapidement à la surface du milieu, elles prennent l'aspect d'un voile farineux.

Les crachats pauvres en bacilles ne donnent que des colonies isolées, se développant lentement.

Prélèvement et examen des colonies. — Les colonies de bacilles tuberculeux se distinguent aisément des colonies de germes associés, en effet les colonies rouge-brique sont celles de cocci divers, par exemple de *leptothrix*. Prélever avec la pointe du fil de platine une colonie, l'étaler dans une goutte

d'eau sur une lame, sécher, fixer et colorer par la technique de Ziehl-Neelsen.

Récents milieux électifs à base d'œufs

Milieux de Griffith (1)-Lyall (2). — Prendre 500 gr. de foie de veau, les faire macérer pendant un jour dans un litre d'eau bouillie. Faire bouillir ensuite cinq minutes, filtrer. Traiter les œufs comme par la technique de Pétrof. Terminer en mélangeant la macération et les œufs dans la proportion suivante :

Œufs.	4 parties
Foie de veau.	1 partie

Tyndaliser trois jours de suite. Eprouver à l'étuve. Les auteurs ont préconisé un milieu voisin du premier et qui s'en distingue par l'addition de glycérine à raison de 5 grammes de glycérine pour 100 grammes de milieu œuf-foie de veau. Signalons aussi le milieu œuf-inuline expérimenté par les mêmes auteurs (inuline 1 gr. ; œuf 100 gr.) (a).

Milieux d'Arlington (Burns) (3). — Ces milieux sont caractérisés par l'addition d'acides aminés abiurétiques provenant de la caséine au milieu de Dorset dans la proportion de 5 o/o.

Milieux de culture à base de pommes de terre

Culture du bacille de Koch contenu dans les crachats sur pommes de terre glycélinée. — Cette technique est employée par Bossan et Baudry (4). Se servir de tubes de Roux, dans la partie sous-jacente à l'étranglement remplir avec du bouillon glycéliné à 4 o/o. Couper un fragment de pomme de terre à l'aide de l'emporte-pièce, l'introduire dans le tube de Roux. Autoclaver une demi-heure entre

1. Griffith, *Lancet*, 1916, *British medical Journal*, 1914.

2. Lyall, *American Review of Tuberculosis*, 1922, p. 899-902.

3. Burns, *American Review of Tuberculosis*, VI, 1922, p. 950-955.

4. Bossan et Baudry, *C. R. Biologie*, 21 oct. 1922.

(a) Les crachats destinés à êtreensemencés sur les milieux de Griffith-Lyall sont traités pendant cinq à quinze minutes par une solution d'antiformine à 10 o/o pour détruire les germes d'association microbienne.

115 et 120 degrés. Laisser refroidir en inclinant le tube de façon que la face plane des fragments de pommes de terre regarde en bas. Au bout de douze à quatorze heures redresser les tubes et capuchonner.

Ensemencement de crachats sur pomme de terre glycinée. — Laisser dix minutes le crachat en contact avec une solution aqueuse au dixième d'acide sulfurique pur (66°). Agiter, prélever quelques centimètres cubes de crachats à l'aide de la pipette, déposer quelques gouttes sur la face plane du fragment de pomme de terre : faire passer au bout de quelques instants le bouillon du tube sur la surface ensemencée. Capuchonner, mettre à l'étuve à 37 degrés.

Les colonies se développent en quatre semaines, elles sont agglomérées, proéminentes, irrégulières, de couleur blanc-gris.

Culture sur pommes de terre biliées(1). — Réunir dans un ballon le contenu de plusieurs vésicules biliaires aussi fraîches que possible, stériliser à 120 degrés et conserver le ballon au repos pendant environ trois semaines à la température du laboratoire. Il se forme un abondant dépôt de pigments de couleur rouge-brique qu'on sépare ensuite par filtration sur papier au moment de l'usage. Des fragments de pommes de terre coupées à l'emporte-pièce sont immergés complètement dans cette bile à laquelle est ajoutée 5 o/o de glycérine. Porter le tout au bain-marie pendant trois heures à 75 degrés. Répartir en tubes de Roux, stériliser pendant 30 minutes à 120 degrés.

Les crachats sont débarrassés des germes associés suivant l'une des techniques étudiées. On ensemence au moyen de la stâpule avec les mêmes précautions que précédemment.

Les bacilles poussent très vite, après dix jours on observe sur toute la surface de la pomme de terre une couche crémeuse, mince, grise verdâtre, qui s'épaissit peu à peu au bout de quatre à cinq jours.

Diverses techniques de destruction des germes associés

A côté des procédés auxquels se sont adressés, Petroff, Bossan et Baudry pour détruire les associations micro-

1. Calmette, Académie de Médecine, 20 déc. 1908.

biennes il y a d'autres techniques qui méritent d'être signalées.

Technique de Uhlenhut (1). — Prendre 5 à 10 grammes de crachats, les mettre dans un tube à centrifuger, les mélanger avec une quantité égale de solution d'antiformine à 30 o/o. Capuchonner, agiter violemment et laisser en contact pendant une heure. Centrifuger, décanner le liquide surnageant, laver deux fois le dépôt à l'eau stérilisée et après une dernière centrifugation étaler le culot sur deux tubes de milieu électif.

Technique de Weber et Diterlen (2). — Traiter les crachats en les mélangeant pendant une heure avec de l'antiformine à 4 o/o. Centrifuger et ensemençer le culot.

Technique de Twort (3). — Plonger un fragment de crachat dans une solution aqueuse à 2 o/o d'*éricoline*. Porter pendant une heure à l'étuve à 37 degrés. Ensemençer.

Technique de Kurt Meyer et Fitschen (4). — Ensemençer le crachat à examiner les milieux de culture ordinaires ; si ceux-ci restent stériles, étaler le crachat le lendemain sur le milieu électif sans préparation préalable. Si un germe d'infection secondaire est associé mettre le produit pendant deux heures à l'étuve à 38 degrés avec de l'antiformine à 15 o/o. Centrifuger, lever deux fois le culot avec de l'eau physiologique. Ensemençer et capuchonner les tubes, les sceller à la paraffine.

Valeur diagnostique des cultures du bacille de Koch dans les crachats

La culture du bacille de Koch contenu dans les crachats est une méthode généralement délicate et ne peut guère être employée dans de petits laboratoires, ne disposant que de ressources insuffisantes. Le milieu de Pétroff est coûteux, d'une préparation difficile et réalisable seulement par un manipulateur très exercé à la pratique de laboratoire. Les milieux électifs de culture ne sauront donc être adoptés que lorsque le commerce les aura mis à la portée de tous les chercheurs.

1. Uhlenhut, *Arch. a. d. Kais. Gesundh.*, vol. XXXII, 1909, fasc. 1.

2. Weber et Diterlen, *Arch. a. d. Kais. Gesundh.*, fasc. 12, 1912.

3. Twort, *Centralblatt für Bakl.*, vol. XLIV, p. 65, 1909.

4. K. Meyer et Fitschen, *Med. Klinick.*, n° 23, 1922.

Les résultats encore incertains de cette méthode tiennent à la difficulté d'obtenir une désinfection parfaite des germes d'association secondaire ; si cette désinfection est poussée trop loin le bacille de Koch peut être lui-même détruit, ou bien au contraire si elle est insuffisante les germes saprophytes persistent, se développent rapidement et gênent la culture du bacille de Koch ; dans les deux cas il y aura absence de colonies tuberculeuses. Les manipulations nombreuses qu'exigent la préparation des milieux électifs sont très favorables aux contaminations ; on est toujours exposé à voir proliférer des saprophytes qui empêchent le développement du bacille tuberculeux.

La méthode de culture du bacille de Koch contenu dans les crachats est assez rapide : en quinze à vingt jours les premières colonies peuvent apparaître à la surface du milieu. D'autre part ces colonies peuvent être facilement différenciées suivant que ce sont des colonies de bacilles tuberculeux humains ou de bacilles tuberculeux bovins. Mais nous ne pouvons reconnaître actuellement à cette méthode que ces deux avantages. Elle n'aura de valeur réellement pratique que lorsqu'elle permettra de découvrir le bacille de Koch qui n'aura pu être décelé ni par l'examen direct ni par l'homogénéisation répétés.

CHAPITRE VI

RECHERCHE DU BACILLE DE KOCH DANS LES MATIÈRES FÉCALES

La présence des bacilles de Koch dans les matières fécales chez les phthisiques a été reconnue déjà depuis longtemps. Les observations de Cadéac et Bournay (1895) (1) de Wood, de Litchtheim, de Schaw et d'Anglade en sont la preuve, mais ces auteurs tendaient à admettre que l'existence du bacille tuberculeux dans les selles résultait uniquement de la déglutition des crachats ou de lésions ulcéreuses de l'intestin.

Frankel et Krause, Emerson et surtout Rosenberger (2) (1907-1909) élargirent tout d'un coup le problème, en trouvant des bacilles acido-résistants chez un grand nombre de sujets atteints soit de granulie, soit de tuberculoses externes (articulaire, ganglionnaire). A la même époque M. le professeur Calmette (3) prouva l'élimination du bacille de Koch par la bile et l'intestin.

« Dans une première série d'expériences, il injecte dans la veine marginale de l'oreille, à des lapins, un centigramme de bacilles bovins finement émulsionnés, provenant d'une culture sur pomme de terre glycélinée âgée de six semaines. Chacun des animaux était sacrifié par section du cou, successivement 24 heures, 48 heures, 3, 4, 5, 6, 7, jours après l'inoculation.

Le cadavre était immédiatement ouvert en évitant soigneusement de toucher la surface du foie ; le contenu de la vésicule biliaire était aspiré dans une pipette et centrifugé. Le culot de centrifugation dilué dans 2 centimètres cubes d'eau physiologique était inoculé à la dose de 0 emc. 5 sous la peau de la cuisse de 4 cobayes pour chaque lapin. Or

1. Cadéac et Bournay, Société de Biologie, 7 déc. 1895.

2. Rosenberger, *American journal of med. sciences*, 1907, XII, 1909, II.

3. Calmette, Académie des sciences, 8 mars, 1909. *Annales I. P.*, fév. 1912, p. 163.

tous les cobayes qui avaient reçu la bile des lapins injectés depuis vingt-quatre et quarante-huit heures, cinq et six jours restèrent indemnes, tandis que la proportion de tuberculeux fut de 2 sur 4 pour ceux qui avaient reçu la bile du lapin du troisième jour, de 1 sur 4 pour ceux qui avaient reçu la bile du lapin du quatrième jour, de 3 sur 4 pour ceux qui avaient reçu la bile du lapin tué le septième jour » (1).

Une deuxième expérience est encore plus démonstrative : « chez deux génisses on créa une fistule biliaire permanente qui permit de puiser à volonté dans la vésicule, à l'aide d'une pipette, la quantité de bile nécessaire aux inoculations d'épreuve. L'une de ces génisses reçut, dans la veine jugulaire 3 milligrammes de bacilles tuberculeux virulents d'origine bovine. Chaque jour avant et après l'expérience, on prélevait dans la vésicule une petite quantité de bile dont on injectait 0 cmc. 5 à 4 cobayes, 15 de ces animaux sur 109 devinrent tuberculeux et tous ceux qui furent infectés avaient reçu de bile recueillie au delà du dix-neuvième jour après l'inoculation virulente de la génisse. Si l'on considère que la quantité de la bile introduite sous la peau de chaque cobaye était minime, 0 cmc. 5 (le cobaye ne peut en tolérer davantage) et si on la compare au volume énorme (environ 2 litres) de ce liquide qui est excrété par la génisse en vingt-quatre heures on doit en conclure que le nombre de bacilles évacués par les voies biliaires chez cet animal était sûrement considérable ».

Parallèlement fut faite la preuve de la virulence des déjections d'une autre génisse qui avait reçu dans les veines une émulsion de bacilles humains. Sur 66 cobayes inoculés avec 0 gr. 1 de déjections, 3 seulement devinrent tuberculeux. Mais il convient ici encore d'observer que la quantité d'excréments reçue par chaque animal était infime, si on la rapporte à celle émise par la génisse en vingt-quatre heures, qui est d'environ 7 à 8 kilogrammes.

A la suite des travaux de M. Calmette de nombreux auteurs (Moore Alexander, Philipp et Porter, Rittel-Wilenko, Laird, Kite et Stewart) (2) entreprirent l'étude méthodique de la question en ce qui concerne l'homme et démontrèrent

1. Calmette, *Infection bacillaire et la tuberculose*, Masson, 1922, p. 405.

2. Cité par M. Calmette, *Infection bacillaire et la tuberculose*, p. 407.

que les bacilles acido-résistants trouvés dans les matières fécales des tuberculeux sont des bacilles de Koch.

D'après cet exposé sommaire et dans l'état actuel de nos connaissances, on doit admettre avec le professeur Calmette que fréquemment les bacilles sont amenés au foie par la circulation sanguine et éliminés ensuite par la bile dans l'intestin. La déglutition des crachats entrevue par les premiers auteurs comme facteur de la présence des bacilles de Koch dans les selles n'est pas niable. Depuis ces deux dernières années la question est sortie du domaine purement scientifique : MM. Sergent et Durand (1), Moreau et Vénot ont préconisé cette recherche comme moyen de diagnostic bactériologique de la tuberculose.

Techniques des recherches du bacille de Koch dans les matières fécales

Il existe deux techniques permettant de découvrir le bacille de Koch dans les matières fécales : 1^o technique de Calmette et Guérin ; 2^o technique de Moreau et Vénot.

Technique de Calmette et Guérin (2). — Peser dans un vase conique d'Erlenmayer 30 grammes de matières que l'on mélange avec 55 centimètres cubes d'eau stérile et 15 centimètres cubes d'antiformine. Agiter à plusieurs reprises et laisser en contact pendant trois à quatre heures. Centrifuger, décanter, puis recueillir le dépôt dans un vase stérile, diluer dans 8 à 10 centimètres cubes d'eau salée physiologique. Filtrer à travers 2 ou 3 doubles de gaze stérilisée et inoculer à la dose de 2 à 3 centimètres cubes sous la peau de 3 ou 4 cobayes au voisinage de la région inguinale.

Technique de Moreau et Vénot (3). — Prélever 50 gr. de matières fécales. Triturer dans un mortier en ajoutant petit à petit une quantité suffisante de la solution aqueuse de chlorure de sodium à 25 o/o de façon à avoir une émulsion semi-liquide, filtrer sur gaze stérilisée pour arrêter les gros débris cellulaires et autres. Equilibrer deux tubes à centrifuger avec cette émulsion, additionner 2 centimètres cubes d'un mélange à parties égales d'éther et de ligroïne. Agiter

1. Sergent et Durand, *Revue de la Tuberculose*, 1922, n° 3.

2. Calmette, *Infection bacillaire et la tuberculose*, p. 408.

3. Moreau et Vénot, *Revue de la Tuberculose*, 1922, n° 3.

fortement les tubes en obturant avec une feuille de caoutchouc stérile afin de provoquer l'émulsion de la ligroïne, puis centrifuger dix minutes à 5.000 tours à la minute. Prélever les bacilles dans la couche supérieure à l'aide de l'anse de platine recourbée. Etaler sur une lame préalablement recouverte d'une goutte de blanc d'œuf acétique. Sécher, fixer à l'étuve à 37 degrés. Colorer par la technique de Ziehl-Neelsen.

Tout récemment (1), M. Venot vient de signaler qu'il a pu inoculer aux cobayes des bacilles contenus dans les matières fécales et collectés en surface suivant le procédé précédent avec des résultats intéressants.

1. Venot, *Rev. de la Tuberculose*, n° 5, nov. 1923, p. 490.

DEUXIÈME PARTIE

VALEUR COMPARÉE DES DIFFÉRENTES TECHNIQUES DE COLORATION D'ENRICHISSEMENT ET D'INOCU- LATION DES CRACHATS TUBERCULEUX.

L'exposé, un peu long peut-être que nous avons fait parce que nous n'avons pas craint d'insister minutieusement sur la description technique de chaque méthode bacilloscopique, va du moins nous permettre de comparer avec plus de sûreté ces méthodes entre elles tant au point de vue de leur valeur démonstrative qu'en ce qui concerne leurs autres avantages ou inconvénients. Ce qui ressort tout d'abord d'un coup d'œil d'ensemble c'est que, dans la moyenne des cas ordinaires, leurs résultats sont sensiblement équivalents. Où certaines marquent leur supériorité, c'est dans des cas douteux ou dans des circonstances exceptionnelles, et, comme les cas douteux ne sont pas rares dans la pratique journalière du dispensaire et en clientèle, leur fréquence relative suffit à légitimer le recours à des procédés moins dispendieux.

Du reste pour certaines techniques les résultats particulièrement brillants obtenus par leurs promoteurs peuvent très bien dépendre d'un facteur personnel tenant entre autres causes à l'habileté opératoire et à la longue expérience acquises.

CHAPITRE PREMIER

VALEUR COMPARÉE DES TECHNIQUES DE COLORATION DU BACILLE DE KOCH CONTENU DANS LES CRACHATS

Les différentes techniques de coloration ont été comparées pour la plupart à la technique de Ziehl-Neelsen qui jusqu'ici a été considérée comme la plus rigoureuse des méthodes de coloration et celle donnant les meilleurs résultats. Pour la facilité de l'exposition des résultats des différents expérimentateurs, nous avons résumé leurs travaux sous forme de tableaux ; les chiffres qui y figurent sont ou la moyenne bacillaire par champ microscopique ou un numéro d'ordre des échelles de Gaffshy ou du Dr Guinard. Habituellement ces résultats ont été établis en numérant les bacilles contenus dans dix à vingt champs. D'autres auteurs ont classé les techniques d'après le plus grand nombre d'examens positifs qu'elles leur donnaient dès la première analyse d'un crachat.

Comparaison des récentes techniques de coloration par la fuchsine phéniquée

Résultats de Geske (1). — Cet auteur a fait quatre séries d'expériences portant sur des crachats de richesse bacillaire variable. Dans une première série il a comparé entre elle les méthodes de Ziehl-Neelsen, Spengler, Jötten-Haarmann, Konrich, Schulte-Tigges. Le tableau n° 1 indique les résultats comparatifs qu'il a obtenus. Voir page 52.

En comparant les moyennes bacillaires par champ en allant de la plus forte vers la plus faible nous pouvons classer les techniques étudiées dans l'ordre suivant :

1. Geske, *Zeitschrift für Tuberculosis*, vol. XXXVI, fasc. 5

La technique de Spengler a donné une moyenne de 25,2 bacilles par champ.

La technique de Jötten a donné une moyenne de 23,7 bacilles par champ.

La technique de Schulte-Tigges a donné une moyenne de 14,2 bacilles par champ.

La technique de Konrich a donné une moyenne de 9,3 bacilles par champ.

La technique de Ziehl-Neelsen a donné une moyenne de 4,7 bacilles par champ.

Les résultats de la deuxième série d'expériences ont permis une classification analogue :

T. Spengler	1,26	bacilles par champ.
T. Jötten-Haarmann	1,24	—
T. Schulte-Tigges	0,77	—
T. Ziehl-Neelsen	0,38	—

Dans la troisième série d'examen, les crachats étaient très peu bacillifères, les résultats obtenus par les différentes techniques les ont fait classer dans l'ordre suivant :

T. Spengler	0,61	bacilles par champ.
T. Jötten-Haarmann	0,45	—
Schulte-Tigges	0,17	—
Konrich	0,13	—

A titre complémentaire Geske compara la technique de Ziehl-Neelsen avec celle de Spengler. Alors que la coloration de Spengler pouvait déceler en moyenne 58,5 bacilles tous les dix champs, celle de Ziehl-Neelsen n'en révélait que 3,4 dans les mêmes conditions.

Résultats de Spreitzer (1).— Les comparaisons de Spreitzer sont basées sur 360 examens de crachats ; quatre-vingt-quatorze fois le bacille de Koch fut découvert par la technique de Ziehl-Neelsen à la première analyse, alors que dans les mêmes conditions cent fois il fut découvert par les techniques de Konrich, de Marx, de Jötten et d'Ulrich, mais il est juste d'ajouter que six fois le bacille fut découvert lors d'examen suivants par la technique de Ziehl-Neelsen. La

1. Spreitzer, *Centralblatt für Bakt.*, 1921, p. 458-461.

TABLEAU I

CRACHATS	ZIEHL-NEELEN Bacilles par champ microscopique	SPENGLER Bacilles par champ microscopique	JÖTTEN-HAARMANN Bacilles par champ microscopique	KONRICH Bacilles par champ microscopique	SCHULTE Bacilles par champ microscopique
1	2.55	11.45	11.05	2.95	7.65
2	3.55	12.95	13.3	7.6	13.3
3	1.05	10.15	10.65	25	7.1
4	0.2	1.29	1.85	0.4	1.35
5	1	5.25	6.3	1.25	4.7
6	0.65	8.75	8.3	1.6	4.1
7	7.95	19	10.45	11.3	14.2
8	1	3.25	2.4	0.8	1.45
9	0.65	7.85	7.95	2.6	1.9
10	0.68	5.6	5.35	1.1	1.65
11	4.5	32.05	49.15	11.6	33.44
12	27.95	128.45	140.75	58.85	120.4
13	6.3	13.85	17.55	8.05	8.75
14	14.65	26.85	23.9	13.25	20.2
15	12.85	90.35	86.35	22.5	22.1
16	1.45	5.75	6.05	1.95	2.1
17	0	2.8	2.05	0.7	1.5
18	5.75	35.3	42.6	12.2	15.5
19	8.75	42.35	83.55	14.5	29.25
20	21.15	42.1	39.8	30.15	30.55
21	0	0.65	0.55	0.2	0.3
22	1.55	2.75	2.8	2	1.9
23	0.1	3.15	3.85	1.07	1.45
24	1.3	8.95	9.65	3.95	8
25	1.7	4.45	5.35	1.65	2
26	3.8	31.45	33.6	10.05	24.05
27	25.6	66.4	78.55	67.3	70.3
28	2.65	15.75	17.55	5.25	8.5
29	0.8	4.85	4.4	2.9	2.5
30	6.35	46.15	48.95	16.7	28.1
Moyenne par champ.	4.7	25.2	23.71	9.26	14.22

classification des techniques d'après les moyennes bacillaires est la suivante :

T. Konrich	14,94	bacilles par champ microscop.
T. Marx	14,5	—
T. Jönnen-Haarmann	12,05	—
T. Ulrich	13,04	—
T. Ziehl-Neelsen	5,76	—

Résultats de Shoub (1). — Shoub a comparé les techniques de Schulte-Tigges et de Ziehl-Neelsen ; 800 crachats ont été examinés par ces deux techniques, 244 fois le procédé de Schulte-Tigges découvrit le bacille de Koch alors que par le procédé de Ziehl-Neelsen, il n'avait été découvert que 183 fois. La numération bacillaire par champ microscopique se montra nettement en faveur de la technique de Schulte-Tigges ; certains champs avaient de 21,7 à 16,9 bacilles, alors que par la technique de Ziehl-Neelsen on n'en comptait que 16,9 à 21,7.

Résultats de Bernblum (2). — Cet auteur a comparé deux techniques anciennes (Kronberger, Unna-Pappenheim) et une méthode récente (Konrich) au procédé de Ziehl-Neelsen. Chaque crachat a été étalé sur deux lames, le nombre de champs numérés a été de 20. Voir tableau II ci-dessous.

TABLEAU II

Crachats	Ziehl-Neelsen		Kronberger		Unna-Pappenheim		Konrich	
	Lame I	Lame II	Lame I	Lame II	Lame I	Lame II	Lame I	Lame II
1	1	7				4	2	19
2	4	7	0	14	16	17	10	32
3	9			6	2		27	18
4	0		0		0	0	0	0
5	17	12	28	2	17	22		43
6	24		36	9	15	13	42	34
7	17	12						
8	96	88	90		26			102
9	55	70	96	50	44	56	140	162
10	47	102	82		36	42	199	186
11								
12	42	4	2	5	3		7	9
13		27			12	7	16	41
14								
15		21	16		11	9	19	36

1. Shoub, *Journal of Bacteriology*, 1923, VIII, p. 121-126.

2. Bernblum, *Centralblatt für Bakt.*, LXXXVII, 1^{re} sept. 1921, p. 23-27.

D'après ces résultats les techniques qui ont été comparées peuvent être rangées dans l'ordre suivant :

T. de Konrich	51,14	bacilles par champ microscopique
T. Ziehl-Neelsen	30,2	—
T. Kronberger	26,55	—
T. Unna-Pappenheim	18,3	—

TABEAU III
Résultats personnels

Crachats	Ziehl-Neelsen	Kühm-Bonell	Konrich	Cépède	Bender	Jötten
1	8-10	3-4	0-0	8-10	11-15	16-25
2	7-9	8-10	5-7	5-7	8-9	8-10
3	16-20	14-20	16-25	11-15	11-12	25-30
4	1-2	2-3	1-2	1-3	12-13	3-4
5	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0
6	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0
7	9-8	9-12	5-7	3-4	17-20	20-25
8	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0
9	1-2	1-2	1-2 bacilles sur qq. ch.	1-2 sur qq. champs	3-4	2,5-3,8
10	20-25	8-10	8-12	8-10	25-30	24-27
11	10-10	8-10	1-2	5-7	6-7	8-10
12	2-4	1-2 sur qq. champs	0-0	1-2 sur qq. champs	1-3	1-1
13	5-6	1-2 sur qq. champs	4-5	1-2 sur qq. champs	3-4	1-3
14	1-1	1-5 sur toute la préparat.	0-0	0-0	1-2	2-3
15	1-3	1-2	0-0	1 bacille sur la prép.	1-2	1-2
16	3-5	2-3	1-2	1-2 bacilles sur la prép.	3-4	4-5
17	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0
18	1-2	2-3	1-2	3-4	8-10	3-4
19	5-8	4-5	5-7	4-6	6-10	4-6
20	11-15	8-10	5-7	6-7	12-17	16-20

Résultats personnels. — Les crachats ont été prélevés sur des malades des sanatoriums de Bligny ; les étalements aussi uniformes que possible, ont été exécutés entre lames et lamelles ; la fixation des préparations s'est faite en les laissant séjourner pendant dix minutes à l'étuve à 37 degrés. Les crachats examinés ont été choisis pour la plupart sur des sujets présentant des lésions en évolution ; pourtant pour

vérifier la rigueur de certaines techniques particulièrement brillantes, nous avons coloré plusieurs lames de crachats depuis fort longtemps négatifs par la technique de Ziehl-Neelsen. Les résultats sont indiqués par le tableau III.

D'après ces résultats, les six techniques comparées entre elles ont pu être classés dans l'ordre suivant :

T. de Jøtten Haarmann	8,7	bacilles par champ microscopique
T. de Bender	7,2	—
T. de Ziehl-Neelsen	6,6	—
T. de Kühne-Borrel	3,8	—
T. Cépède	3	—
T. Konrich	2,4	—

Résultats de Bender (1). — Cet auteur n'établit pas ses comparaisons d'après les plus fortes moyennes bacillaires par champ microscopique, mais d'après le plus fort pourcentage de résultats positifs nouveaux trouvés au cours d'examen de crachats précédemment négatifs.

Cent huit crachats ont été colorés par la technique de Ziehl-Neelsen, Spengler, Kronberger et Weiss ; quarante-huit fois le bacille de Koch fut découvert par la technique originale de Spengler (44,4 o/o). quarante-sept fois les techniques de Kronberger et de Weiss le mirent en évidence pour la première fois, alors que dans les mêmes conditions la technique de Ziehl-Neelsen ne le découvrit que quarante-quatre fois (40,74 o/o).

Cent soixante-dix crachats ont été examinés par les techniques de Ziehl-Neelsen, Spengler, Jøtten-Haarmann ; cinquante-neuf fois le bacille a été découvert par la technique de Ziehl-Neelsen (= 34,7 o/o). soixante et une fois il fut trouvé par celle de Spengler (= 35,8 o/o) et soixante deux fois il fut décelé par la technique de Jøtten (= 36,47 o/o) (2). 1.012 crachats ont été examinés et colorés par la technique de Ziehl-Neelsen et par celle de Bender, deux cent fois l'examen direct répété à intervalles réguliers permit de découvrir le bacille de Koch ; mais celui-ci fut décelé cent quatre-vingt-treize fois dès le premier examen par la technique de Bender, alors que par celle de Ziehl-Neelsen il n'était mis en évidence que cent soixante-six fois.

1. Bender, *Centralblatt für Bakt.*, 1921, LXXXVI, p. 667.

2. Cité par Bender emprunté à Jøtten-Haarmann.

En comparant entre eux ces différents résultats nous avons pu obtenir la classification suivante :

T. Bender	40,5 o/o de crachats posit. au 1 ^{er} examen.	
T. Kronberger	37,07 o/o	—
T. Weiss	37,07 o/o	—
T. Spengler	37,06 o/o	—
T. Jøetten	36,04 o/o	—
T. Ziehl-Neelsen	34,7 o/o	—

**Comparaison des techniques de colorations
s'adressant à d'autres colorants que la fuschsine**

La technique d'Hermann a fait l'objet de comparaisons nombreuses avec la technique de Ziehl-Neelsen.

Albert Caan (1) trouve dans les préparations colorées par le violet de gentiane d'Hermann cinq à six fois plus de bacilles que dans les préparations colorées par la fuchsine. C'est la même opinion que soutiennent Karl Krunwiede et L. Blackburn. Sur 28 préparations précédemment négatives à l'examen direct, cinq résultats furent positifs, deux de ceux-ci étaient dus à la technique d'Hermann, un seul étant dû à la technique de Ziehl-Neelsen. Après homogénéisation des crachats précédemment négatifs cinq résultats positifs nouveaux ont été obtenus mais seulement par la coloration d'Hermann; les préparations colorées par la technique de Ziehl-Neelsen ne révélèrent aucun bacille.

Longsted a examiné 1.200 crachats, 345 furent positifs par les deux techniques d'Hermann et de Ziehl-Neelsen, mais alors que la méthode d'Hermann décelait à elle seule vingt-neuf fois les bacilles, la technique de Ziehl-Neelsen ne les décelait que huit fois. La comparaison est encore en faveur de la technique d'Hermann, si nous considérons les moyennes bacillaires par champ microscopique. En effet 136 fois les bacilles furent aussi nombreux par champ microscopique, mais 125 fois la technique d'Hermann se montra supérieure alors que 47 fois seulement c'était celle de Ziehl-Neelsen qui permettait de compter un plus grand nombre de bacilles par champ.

Nous compléterons ces renseignements en publiant un extrait d'un tableau d'Herzfeld comparant la valeur des

1. Cité par Kongsted, *Centralblatt für Bakt.*, 1920, 84, p. 513-515.

techniques de Ziehl-Neelsen et d'Hermann; l'échelle qui a été employée est celle de Gaffsky, les préparations sont des étalements de culot de centrifugation de crachats homogénéisés par l'antiformine (Voir tableau IV).

TABLEAU IV

COLORATION	ZIEHL-NEESEN	HERMANN
Examen direct.....	g ₁	g ₁
Antiformine 5 o/o.....	g ₁	g ₄
— 10 o/o.....	g ₆	g ₅
— 15 o/o.....	g ₇	g ₀
— 20 o/o.....	g ₆	g ₆
— 25 o/o.....	g ₅	g ₄
Examen direct.....	0	0
Antiformine 10 o/o.....	g	g ₃ g ₄
— 20 o/o.....	g ₂	g ₄
— 30 o/o.....	g ₂	g ₃ g ₄
Ellermann-Erlandsen.....	g ₇	g ₆

TABLEAU V

Crachats	Ziehl-Neelsen		Gasis	
	Lame I	Lame II	Lame I	Lame II
1	1	7	10	
2	4	7	15	17
3	9			
4	0		0	
5	24	25	32	4
6	17	12	32	23
7	96	88	92	82
8	55	70		
9	47	102	92	76
10				
11				
12	42	4		
13		27		37
14				
15		21		

La technique de Gasis en raison de sa manipulation un peu plus difficile que celle des autres méthodes de coloration

n'a donné lieu qu'à très peu de comparaisons ; c'est une technique médiocre, car le bacille coloré en rose-pâle se détache mal sur le fond de la préparation. Nous nous bornerons à signaler un extrait d'un tableau de Bernblum (1) en remarquant que les résultats des deux techniques au point de vue quantitatif sont les mêmes, mais au point de vue qualitatif la technique de Ziehl-Neelsen est supérieure à celle de Gasis (2). (Voir tableau V).

Résultats personnels. — Nous avons comparé les trois techniques récentes de colorations de Lesieur et Pintenet, Luisi et Schœdel. Les crachats ont été prélevés aux sanatoriums de Bligny, les étalements ont été faits entre lames et lamelles, les préparations ont été fixées par séjour pendant dix minutes à l'étuve à 37 degrés. Les crachats avaient une richesse bacillaire très variable. L'échelle de numération employée est celle de M. le D^r Guinard.

TABLEAU VI
Résultats personnels

Crachats	Lesieur et Pintenet	Luisi	Schœdel	Ziehl Neelsen
1	VII	VI	VII	VI
2	IV	IV	IV	V
3	o	o	o	o
4	I	o	II	o
5	V	V	IV	III
6	III	IV	IV	III
7	I	I	I	o
8	VI	VII	VII	VI
9	V	III	III	III
10	VI	V	IV	IV
11	I	o	III	III
12	III	IV	IV	IV
13	II	o	II	II
14	IV	IV	IV	V
15	II	II	II	II

Les deux techniques de Lesieur et Pintenet et de Luisi se sont montrées sensiblement égales à la technique de Ziehl-

1. Bernblum, *Centralblatt für Bakteriologie*, 87, 1^{er} septembre 1921, p. 23-27.

2. L'échelle de numération est celle de Gaffsky.

Neelsen ; les bacilles colorés en violet se détachent bien du fond rose de la préparation. La technique de Schoedel a donné incontestablement les meilleurs résultats, mais il est absolument indispensable de se servir de bleu de méthylène B. N. (voir tableau VI).

Résumé. — Si nous jetons un coup d'œil d'ensemble sur les études comparatives que nous venons d'exposer nous voyons que nous pouvons en retirer trois enseignements :

1° Les résultats de certaines techniques récentes de coloration sont contradictoires ; entre les mains de certains expérimentateurs elles donnent d'excellents résultats, alors que dans d'autres mains elles ne donnent que des résultats médiocres. Une pareille incertitude est donc un défaut et empêche de les adopter ;

2° Les techniques de coloration du bacille de Koch par d'autres colorants que la fuchsine phéniquée sont aussi rigoureuses et permettent d'obtenir les mêmes résultats qu'avec les anciennes méthodes ;

3° Tous les auteurs sont d'accord pour considérer les techniques basées sur les principes de la coloration de Spengler comme donnant les meilleurs résultats ; ces procédés ont le grand avantage de donner des résultats supérieurs à ceux de la technique de Ziehl-Neelsen ; ils sont d'une manipulation aussi facile, leur exactitude a été éprouvée en colorant des crachats non tuberculeux.

Nous signalerons donc comme techniques les plus recommandables celles de Bender, Tribondeau-Jøtten, Schultetigges, la coloration de Ziehl-Neelsen restant toujours une technique de valeur moyenne ; la technique de Konrich préconisée comme une des meilleures donne en réalité des résultats très inégaux.

CHAPITRE II

Valeur comparée des techniques d'enrichissement

Les techniques d'enrichissement ont donné lieu à de nombreuses études comparatives. La plupart des expérimentateurs se sont basés pour établir leurs comparaisons sur le taux de concentration bacillaire des crachats homogénéisés, c'est-à-dire sur le rapport qui existe entre la moyenne bacillaire par champ microscopique après homogénéisation et la moyenne bacillaire dans les mêmes conditions mais avant l'homogénéisation. On a pu comparer les techniques d'homogénéisation entre elles, d'après leur valeur pratique, c'est-à-dire en se basant sur le plus fort pourcentage de résultats positifs fournis en homogénéisant des crachats précédemment négatifs à l'examen direct.

Résultats d'Ellermann-Erlandsen (1). — Il nous a paru intéressant de signaler dès le début de ce chapitre l'une des premières études comparatives, elle nous permet de constater qu'il y a une vingtaine d'années certaines techniques, que l'on considère actuellement comme nouvelles, étaient déjà expérimentées et exactement appréciées. Cet auteur a établi sa classification d'après le taux de concentration bacillaire :

1 ^o Double méthode d'Ellermann Erlandsen	$\frac{15}{1}$
2 ^o Autodigestion	$\frac{7}{1}$
3 ^o Autodigestion avec addition de pancréatine	$\frac{5}{1}$
4 ^o Spengler	$\frac{2}{1}$

Comparaison des techniques d'homogénéisation par l'antiformine

Nous avons vu en étudiant la technique des homogénéisations par l'antiformine à quelle dilution variable de ce produit s'adressaient les auteurs. Des travaux anciens dus à Schnei-

1. Ellermann-Erlandsen, *Zeitschrift für Hygiene*, vol. LXI, p. 219.

der (1) ont fait connaître la meilleure des dilutions. Deux séries d'expériences ont été pratiquées. Dans la première les crachats homogénéisés étaient négatifs à l'examen direct, dans la seconde ils s'étaient montrés bacillifères au même examen. Nous avons résumé les résultats obtenus dans les deux premiers tableaux : l'échelle adoptée est celle de Gaffsky, les dilutions aqueuses d'antiformine comprises entre 15 et 30 o/o sont celles qui ont fourni la plus forte concentration bacillaire. Ces résultats concordent du reste avec les recherches récentes de Lubarsky qui a remarqué qu'avec une dilution d'antiformine à 15 o/o, les crachats sont toujours enrichis en bacilles de Koch ; il y a au contraire disparition des bacilles dans la proportion de 17 o/o si les mêmes crachats sont mis en contact avec une solution d'antiformine à 50 o/o ; enfin il y a disparition totale des bacilles dans la proportion de 65 o/o si les crachats sont mis pendant cinq minutes avec une solution pure d'antiformine.

Comparaison des techniques d'homogénéisation par l'antiformine et par l'antiformine associée à la ligroïne.

Nous publions des extraits des résultats de Schneider et d'Herzfeld. L'échelle de Gaffsky a été adoptée pour certains des résultats de Schneider. Ces résultats sont particulièrement démonstratifs, car la technique d'homogénéisation par l'antiformine simple s'est toujours montrée supérieure à celle où les bacilles sont collectés en surface par la ligroïne (Bernhardt), l'eau salée (Huzella).

Comparaison des techniques d'homogénéisation par l'antiformine avec les techniques d'homogénéisation sodiques.

Résultats de Schneider (2) et d'Herzfeld (3).— Ces auteurs ont établi une comparaison entre les techniques d'homogénéisation par l'antiformine simple et par l'antiformine associée à la ligroïne avec la technique d'Ellermann-Erlandsen. Les trois séries d'expériences ont toujours été en faveur de la technique d'Ellermann ; la technique de Lorentz (antifor-

1. Schneider, *Zeitschrift für Tuberculosis*, n° 18, 1912.

2. Schneider, *Zeitschrift für tuberculosis*, mars 1912, p. 326.

3. Herzfeld, *Zeitschrift für Hygiene*, LXVI, p. 336-340.

mine à 15 o/o) s'est montrée dans l'ensemble supérieure à celle où l'antiformine est associée à la ligroïne. Les résultats obtenus par ces différentes techniques sont publiés aux tableaux V, VI, VII.

L'apparition de la technique d'homogénéisation de MM. Bezançon et Philibert a suscité immédiatement des comparaisons avec l'ancienne technique d'Ellermann-Erlandsen et avec les différentes techniques d'homogénéisation par l'antiformine. Nous publierons d'abord deux séries de résultats permettant de connaître exactement le taux de concentration bacillaire des crachats homogénéisés par la nouvelle méthode.

TABLEAU I
Résultats de Schneider

Dilution de l'antiformine	Examen direct	10 o/o	20 o/o	30 o/o
N° de l'échelle...	g ₀	g	g ₂	g ₂

TABLEAU II

Dilution de l'antiformine	Examen direct	50/o	10 o/o	15 o/o	20 o/o	30 o/o
N° de l'échelle.	g ₁	g ₁	g ₆	g ₇	g ₆	g ₅

Dilution de l'antiformine	Examen direct	10 o/o	20 o/o	30 o/o	40 o/o
N° de l'échelle.....	g ₄	g ₇	g ₅	g ₇	g ₅

TABLEAU III
Résultats de Schneider

Désignation des méthodes	1	2	3	4	5	6	7	8
Lorentz à 15 o/o.....	12,2	0	1,5	6	3,9	2,2	7,1	1,4
Huzella	4,1	0	0	2,5	4,6	0	5	0

TABLEAU IV

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Examen direct...	V	II	I	II	III	III	IV	III	IV	III
Lorentz à 15 o/o.	IX	VI	III	VI	VI	VII	X	III	X	VI
Huzella.....	VIII	IV	IV	IV	III	V	VII	III	V	IV

TABLEAU V
Résultats de Schneider

Désignation des méthodes	1	2	3	4	5	6	7
Examen direct.....	2.0	0		0	0	0	0
Ellermann-Erlandsen.....	2.2	0	0,4	1.1	0	7.8	1.6
Lorentz (15 o/o).....	1.8	0	0	0	0	3	0
Bernhardt (ligroïne.....)	5.7	0.3	0,3	0,7	00,2	0	0

TABLEAU VI
Résultats d'Herzfeld

Désignation des méthodes	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Ellermann-Erlandsen.....	2,5	3	42	218,25	59,75	∞	∞	3,25	∞
Antiforinine...	0,5	1,25	26,25	13,75	32	132,5	∞	0	45
Ligroïne.....	0	1	—	4,25	4,5	11,0	36,6	0	20

TABLEAU VII
Résultats de Schneider

Désignation des méthodes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Examen direct.....	II	II	I	III	III	III	VI	V	I	II
Ellermann-Erlandsen	V	V	III	VI	VI	IX	X	VIII	IV	VI
Lorentz.....	VI	III	III	VI	V	IX	X	IX	IV	V
Bernhardt (ligroïne)	III	IV	II	IV	IV	VIII	IX	VII	III	VI

Résultats de MM. Bezançon et Philibert. — Avant de procéder à l'homogénéisation, un examen direct a été fait pour chacun des crachats, les bacilles ont été numérés sur 20 champs, une moyenne bacillaire a été ensuite établie d'après le total obtenu. L'étalement sur lame du culot de centrifugation a été exécuté dans les mêmes conditions, ainsi que la numération bacillaire par champ microscopique.

Crachat 1	{	Lame témoin.....	1-3 bacilles par champ.
		Homogénéisation.	50 bacilles par champ.
Crachat 2	{	Lame témoin.....	5-10 bacilles par champ.
		Homogénéisation.	50-100 bacilles par champ
Crachat 3	{	Lame témoin.....	nombreux.
		Homogénéisation.	incomptable.
Crachat 4	{	Lame témoin.....	1-10 bacilles par champ.
		Homogénéisation.	100 bacilles par champ.
Crachat 5	{	Lame témoin.....	rare.
		Homogénéisation.	nombreux.
Crachat 6	{	Lame témoin.....	10 bacilles par champ.
		Homogénéisation.	100 bacilles par champ.
Crachat 7	{	Lame témoin.....	0-5 bacilles par champ.
		Homogénéisation.	50-100 hacilles par champ.

Résultats de Lucas (1). — Cet auteur a recherché dans les mêmes conditions que précédemment le taux de concentration bacillaire des crachats homogénéisés par la soude, il s'est adressé à des crachats d'une richesse bacillaire variable à l'examen direct, le nombre de champs numérés a été de 20, les colorations ont été faites suivant la technique de Ziehl-Neelsen, les résultats ont été consignés au tableau VIII.

Taux de concentration bacillaire des crachats homogénéisés par la soude. — MM. Bezançon et Philibert évaluent ce rapport à $\frac{10}{1}$, Lucas estime qu'il est plus élevé, nous l'avons calculé en effet d'après les résultats exposés et nous avons pu l'évaluer à $\frac{133}{10}$. D'une manière générale on peut dire que l'homogénéisation sodique décuple les résultats de l'examen direct.

1. Lucas. Thèse de Paris, 1912-1913.

TABLEAU VIII
Résultats de Lucas

Crachats	Ex. direct	Homog. Bez. Phil.	Crachats	Ex. direct	Homog. B. Ph.
1	4,2	53,2	12	0,15	4
2	3,4	32,6	13	8,8	79,2
3	6,7	7,8	14	4	56,5
4	15	149,5	15	0,7	5,7
5	7,25	75,4	16	10,7	118,3
6	3	37,5	17	3,8	51,4
7	12,25	137,7	18	1,06	26,2
8	6,4	86,8	19	2	19,3
9	4,2	51,2	20	1,05	13
10	2,9	30,6	21	2,8	31,2
11	0,7	6,05	22	5,15	58,3

Résultats comparatifs de MM. Bezançon et Philibert (1). — Ces auteurs ont comparé leur méthode avec celle d'Ellermann et avec celles où la collection des bacilles se fait en surface à l'aide de la ligroïne. On peut considérer les deux techniques d'homogénéisation sodique comme égales dans leurs résultats, néanmoins la double méthode d'Ellermann est d'une manipulation plus longue. Les techniques d'homogénéisation collectant les bacilles en surface se sont montrées très inférieures, quel que soit l'agent fluidificateur, soude ou antiformine. Les résultats suivants obtenus en homogénéisant les crachats par l'antiformine et en collectant les bacilles en surface à l'aide de la ligroïne démontrent aisément la médiocrité de la méthode :

}	Lame témoin examen direct..	25,5 bacilles par champ.
	Homogénéisation antiformine-ligroïne	13,5 bacilles par champ.
}	Lame témoin examen direct..	2,4 bacilles par champ.
	Homogénéisation antiformine-ligroïne	11 bacilles par champ.
}	Lame témoin examen direct..	76 bacilles par champ.
	Homogénéisation antiformine-ligroïne	27 bacilles par champ.
}	Lame témoin examen direct..	10 bacilles par champ.
	Homogénéisation antiformine-ligroïne	0 »

1. Bezançon et Philibert, *Progrès médical*, 13 mai 1911, n° 19.

Résultats comparatifs de Gausset et Corone (1). — Cent vingt-neuf crachats ont été homogénéisés par les techniques de Besançon et Philibert. Ellermann, Lorentz ; les étalements du culot de centrifugation ont été colorés par la technique de Ziehl-Neelsen, les moyennes bacillaires par champ microscopique ont été établies après une numération de dix champs.

Résultats particuliers obtenus par la technique de Besançon et Philibert. — Soixante-treize crachats ont été homogénéisés par cette méthode, trente-deux fois le résultat fut négatif, onze fois l'homogénéisation permit de découvrir le bacille de Koch qui n'avait pas été découvert à l'examen direct ; vingt-six fois la multiplication bacillaire fut variable, quatre fois l'homogénéisation échoua, le nombre des bacilles après homogénéisation étant plus petit qu'avant.

Résultats particuliers obtenus par la double méthode. — Trente-deux crachats ont été homogénéisés par cette technique, seize fois le bacille n'a pu être décelé, quatre fois l'homogénéisation a donné un résultat positif alors que tous les examens directs s'étaient montrés négatifs ; onze fois l'enrichissement bacillaire fut variable mais deux fois l'homogénéisation échoua.

Résultats particuliers obtenus par la technique de Lorentz. — Vingt-quatre homogénéisations ont donné 12 résultats négatifs, deux fois elles permirent de découvrir le bacille de Koch qui était passé inaperçu à l'examen direct répété, neuf fois la multiplication bacillaire fut évidente, treize fois elle fut variable, enfin l'homogénéisation échoua deux fois.

En résumé : dans 15 o/o des cas la technique de Besançon et Philibert décèle le bacille de Koch des expectorations négatives à l'examen direct ; la double méthode d'Ellermann-Erlandsen ne le découvre que dans une proportion de 12 o/o enfin la technique de Lorentz ne le mit en évidence que dans 8 o/o des crachats examinés et négatifs à la méthode directe.

Résultats comparatifs d'Anglada (2). — Soixante crachats ont été examinés directement et colorés par la technique de Ziehl-Neelsen ; 20 champs par préparation microscopique furent soigneusement numérés ; vingt fois on compte plus

1. Gausset et Corone, *Revue de la Tuberculose*, 1913.

2. Anglada, *Province médicale*, 1913.

de 10 bacilles par champ, quatorze fois on n'en constata que 1 à 10. Trente-huit crachats furent reconnus bacillifères par la technique de coloration de Spengler alors que 22 restèrent négatifs. Ces 22 crachats ont été homogénéisés chacun par les techniques de Ellermann-Erlandsen, Besançon et Philibert, et par les méthodes à l'antiformine.

Résultats particuliers obtenus par la technique d'Ellermann. — Vingt-deux crachats homogénéisés ont donné 4 résultats positifs ; l'homogénéisation des 38 crachats bacillifères a donné un enrichissement bacillaire notable, mais très variable d'une lame à une autre.

Résultats particuliers obtenus par la technique de Besançon et Philibert. — Les 22 crachats précédemment négatifs ont donné deux résultats positifs, l'enrichissement bacillaire des crachats bacillifères homogénéisés a été très variable.

Résultats particuliers obtenus par les techniques d'homogénéisation par l'antiformine. — α) L'homogénéisation selon le procédé de Lorentz des 22 crachats négatifs a fourni 4 résultats positifs avec une moyenne bacillaire par champ microscopique de 3.

β) La technique de Loeffler a donné 5 résultats positifs.

γ) La technique de Haserodt collectant les bacilles à la surface du liquide n'a pu donner aucun résultat positif.

Nous pouvons, d'après ces résultats, établir une classification des différentes techniques suivant leur valeur pratique :

1° La technique de Loeffler fournit un pourcentage de 22,72 de cas positifs ;

2° Les techniques d'Ellermann et de Lorentz fournissent un pourcentage de 18,18 de cas positifs ;

3° La technique de Besançon et Philibert fournit un pourcentage de 9,09 de cas positifs ;

4° La technique de Haserodt collectant les bacilles en surface n'a pu fournir de résultats positifs.

Comparaison des récentes techniques d'homogénéisation

Résultats de Darbès (1). — Dans sa thèse inaugurale Darbès (1921-1922) a étudié les dix plus récentes techniques

1. Darbès, Thèse de Bordeaux, 1921-1922.

d'homogénéisation par les substances chimiques ; nous avons calculé les taux d'enrichissement bacillaire de ces nouvelles méthodes et nous les avons comparés à celui de la technique de Bezançon et Philibert. Nous avons pu connaître également la valeur pratique de ces nouvelles techniques en homogénéisant des crachats négatifs à l'examen direct et en notant le nombre de résultats positifs nouveaux.

TABLEAU IX
Résultats de Darbès

Désignation des Techniques	Examen direct	Grisey et Bernard	Guy Laroche et Virmeaux	Koch	Spehl	Giraud et Derrien	Hertzmann	Renaux	Faisca	Despeignes	Quelme et Houal	Bezançon et Philibert	Khouri
11	3-4/°	6.2	6.1	3.8	3	8.3	5.2	9.4	3.1	5.1	23.2	20.4	
12	1-2	4.2	4.4	1	0.9	7.9	3.4	8.2	3.2	5.1	10.3	12.4	
13	2-3	7.1	7.4	3.5	2.4	8.9	7.2	9.3	3.2	3.2	18.2	25.4	
14	1-2	5.3	6.4	3.1	1.8	5.3	4.2	7.3	1.3	1.5	9.3	12.4	
15	1-2	7.9	6.4	1.3	1.2	6.9	3.5	7.3	1.7	2.3	8.4	10.2	
16	1-2	10.3	10.8	4.1	2.3	5.9	4.2	9.8	2.1	3.4	10.4	15.3	
17	2-3	1/10°	1/5°	0	0	1/5°	1/10°	1/10°	2.3	2.4	13/2°	1.5/2°	
18	1-2	3.5	4.3	1.4	1.3	4.5	4.4	4.2	1.3	1.2	14.3	19.2	
19	1-3	3.3	8.2	2.2	1.3	5.3	5.1	8.4	2.1	3.4	15.2	19.3	
20	1-2	4.5	10.1	1.5	1.5	10.2	4.5	4.5	1.7	1.8	40.4	44.2	
21	3-4	8.3	7.4	3.5	2.4	8.9	7.2	9.3	3.2	3.2	18.2	25.4	
22	4-5	5.6	10.1	4.6	4.7	10.3	5.6	7.5	4.5	7.1	46.8	44.3	
23	1-2	6.2	8.1	3.4	1.5	10.3	3.4	3.5	1.5	3.8	20.9	19.2	
24	3-4	15.6	14.3	3.4	3.4	19.2	6.7	15.4	3.5	10.2	53.4	55.4	
25	1/4°	1/°	3/°	1/2°	1/2°	3/°	1	2/°	1/°	1/5°	7.2	10.3	
26	5-6	10.2	10.4	5	4.9	15.4	13.4	14.1	5.1	8.3	32.4	35.8	
27	3-4	5.8	10	2.2	2	6.3	3.8	5.2	2.6	4.1	17.3	20.4	
28	1/5°	1.3	1.4	2,3/5°	2,1/5°	1.5	1.4	1.9	»	1,4/°	1.9	4.2/°	
29	1-2	6.9	6.3	2.3	2.1	6.7	4.2	6.8	2.1	2.9	14.3	18.2	
30	5-6	20.3	20.4	11.1	7.2	15.3	9.4	19.5	7.1	8.4	43.4	45.2	
31	3-4	10.2	10.1	4.3	3.2	8.1	7.2	9.3	3.2	5.1	22.4	25.5	
32	5-6	30.3	29.2	18.1	14.3	19.2	17.3	20.2	10.4	12.3	38.4	43.2	
33	3-4	12.2	11.4	4.1	2.3	10.3	9.2	12.4	4.3	5.9	21.3	30.4	30.
34	1-2	5.5	5.7	5.3	4.2	8.4	4.2	10.3	4.3	5.1	15.3	18.3	18.
35	1-2	10.3	10.9	7.4	4.2	7.9	5.4	9.2	3.2	5.4	10.2	15.3	14.
36	1-2	5.2	5.4	3.2	3.3	6.3	4.5	7.2	3.1	3.3	14.2	24.4	18.
37	1-2	7.3	7.7	3.4	2.4	8.3	5.3	9.4	3.2	4.5	20.4	20.5	19.
38	1-2	7.3	6.4	4.3	4.2	7.8	6.3	7.9	3.2	5.4	14.3	19.5	19.
39	1-2	8.9	8.4	3.2	3.2	8.4	7.4	9.3	3.2	4.2	22.4	22.3	21.
40	2-3	8.3	8.4	4.6	3.9	9.2	8.3	8.8	4.1	5.2	24.3	24.4	24.

Nous avons fait figurer au tableau IX les moyennes bacillaires par champ microscopique qui nous ont permis de

calculer le **taux** de concentration bacillaire de chacune des méthodes étudiées ; nous avons pu établir, d'après celui-ci, la classification suivante :

$$1^{\circ} \text{ T. de Besançon et Philibert } \frac{19,3}{1}$$

$$2^{\circ} \text{ T. de Khouri } \frac{18,3}{1}$$

$$3^{\circ} \text{ T. de Quelme et Honal } \frac{16,06}{1}$$

$$4^{\circ} \text{ T. de Giraud et Derrieu } \frac{7,4}{1}$$

$$5^{\circ} \text{ T. de Laroche et Virmeaux } \frac{7,09}{1}$$

$$6^{\circ} \text{ T. de Renaux } \frac{6,2}{1}$$

$$7^{\circ} \text{ T. de Grysez et Bernard } \frac{5,9}{1}$$

$$8^{\circ} \text{ T. de Hirstman } \frac{4,7}{1}$$

$$9^{\circ} \text{ T. de Despeignes } \frac{3,5}{1}$$

$$10^{\circ} \text{ T. de Koch } \frac{3,2}{1}$$

$$11^{\circ} \text{ T. de Spehl } \frac{2,4}{1}$$

$$12^{\circ} \text{ T. de Faisca } \frac{2,5}{1}$$

On trouvera consigné au tableau X le détail des résultats permettant de connaître la valeur pratique de chacune des nouvelles méthodes :

1^o La technique de Bezançon et Philibert a donné 6 résultats positifs ;

2^o La technique de Quelme et Houal a donné 5 résultats positifs ;

3^o La technique de Giraud et Derrien a donné 4 résultats positifs ;

4^o Les techniques de Renaux et de Despeignes ont donné 3 résultats positifs ;

5^o Les techniques de Hirstmann et de Laroche et Virmeaux ont donné 2 résultats positifs ;

6^o Les techniques de Crysez et Bernard, et de Faisca ont donné 1 résultat positif ;

7^o Les techniques de Koch et de Spehl n'ont pas donné de résultat positif.

TABLEAU X

Désignation des techniques	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Examen direct...	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Grysey et Bernard	»	»	»	»	1-2/10 ^c	»	»	»	»	»
Laroche et Vir- meaux.....	»	»	»	»	1-2/10 ^c	»	»	»	»	1/5 ^c
Koch.....	»	»	»	»	0	»	»	»	»	0
Spehl.....	»	»	»	»	0	»	»	»	»	»
Girard et Derrien	»	»	1/10 ^c	»	1-2/5 ^c	»	»	1-2/	»	»
Hirtzmann.....	»	»	1/10 ^c	»	1-2/5 ^c	»	»	0	»	2-3/5
Renaux.....	»	»	1/10 ^c	»	0	»	»	1-2/20	»	0
Faisca.....	»	»	1/10 ^c	»	1-2/10 ^c	»	»	0	»	»
Despeignes.....	»	»	1/10 ^c	»	1-2/10 ^c	»	»	1-2	»	»
Quelme et Houal.	»	»	2-3/10 ^c	»	1-2	»	1/20 ^c	1-2/20	»	2-3/5 ^c
Bezançon et Phi- libert.....	»	»	2-3/10 ^c	1-2	1-7	»	1/20 ^c	1-2/20 ^c	»	2-3/5 ^c

TABLEAU XI

Crachats	Ex. direct	Bezançon et Philibert	DARBÈS	Laroche et Virmeaux	QUELME
1	0	2-3 b. par ch.	1-3 bacilles	1-2 ts les 10 c.	2-3 b. 10 ch
2	0	0	0	1-5 par ch.	0
3	0	0	0	0	0
4	0	2-3 b. ts les 10 ch.	4-5 ts les 10 ch.	0	0
5	0	1-2 b. surtte la pr.	3-4 prép.	0	1-2
6	0	1-7 b. sur ch.	1-9 par ch.	0	0
7	0	0	0	0	1 ts les 10 ch.
8	0	1 b. ts les 20 ch.	1-5 par ch.	0	1-2 ts 20 ch.
9	0	1-2 b. ts les 20 ch.	1-2 par ch.	0	0
10	0	0	0	0	2-3 par ch.

Comparaison des nouvelles techniques d'homogénéisation dispensant de la centrifugation

Nous connaissons les résultats médiocres fournis par l'homogénéisation au moyen de l'antiformine, technique collectant les bacilles à la surface à l'aide de la ligroïne. De nouvelles recherches ont été tentées en vue d'améliorer ces anciens

TABLEAU XII

Crachats	Ex. direct	Bezangon	Darbès	Laroche et Virmeaux	Quelme
1	1-2	44,2	48,3	4,4	10,3
2	1-2	19,2	20,4	6,4	9,3
3	1-2	19,2	19,1	6,4	8,4
4	1-2	19,3	18,8	10,8	10,4
5	1-2	12,4	15,5	4,3	14,3
6	1-2	12,4	14,3	10,1	40,4
7	1-2	15,3	18,6	8,1	20,9
8	1-2	18,2	19,3	6,3	14,3
9	1-2	18,3	20,8	5,7	15,3
10	1-2	22,4	24,3	10,9	10,2
11	1-2	20,5	26,3	5,4	14,2
12	1-2	22,3	28,4	7,7	20,4
13	1-2	7,3	25,3	6,4	14,3
14	1-2	10,4	20,4	8,4	22,4
		250,4	319,8	101,3	224,8

TABLEAU XIII

Résultats personnels

Crachats	Examen direct	Quelme et Houal	Darbès	Laroche et Virmeaux
1	0	H ₃	H ₃	H ₀
2	0	H ₂	H ₂	H ₀
3	0	H ₃	H ₂	H ₂
4	0	H ₁	H ₃	H ₀ .
5	1-2	25	25	4
6	3-4	32	18	10
7	0-1	18	14	12
8	1 tous les 2 ch.	12	10	8
9	1 sur champ	14	16	5
10	2-4	25	20	15

procédés. Il existe actuellement trois nouvelles techniques d'homogénéisation collectant les bacilles à la surface du liquide homogénéisé sans le secours de la centrifugeuse. Deux autres procédés collectent les bacilles dans un précipité chimique sans centrifugation.

Résultats de Darbès (1). — Nous avons recherché dans

le travail de Darbès, les résultats qui seraient susceptibles de nous permettre de formuler une opinion sur la valeur comparée des trois techniques de Darbès, de Quelme et Houal, et de Laroche et Virmeaux. Les résultats pratiques de ces méthodes sont exposés au tableau XI où nous voyons que les deux techniques de Bezançon-Philibert et de Darbès ont donné 6 résultats positifs sur 10 crachats homogénéisés alors que la technique de Quelme et Houal n'en donnait que 5 et qu'enfin celle de Laroche et Virmeaux se montrait la plus inférieure ne donnant que 2 résultats positifs.

Les mêmes techniques ont pu être classées d'après leur taux de concentration bacillaire. Nous avons exposé au tableau XII les moyennes bacillaires par champ microscopique, qui nous ont permis de calculer ce rapport; d'après ces moyennes, les trois techniques se présentent dans l'ordre suivant :

$$1^{\circ} \text{ Technique de Darbès } \frac{22,1}{1}$$

$$2^{\circ} \text{ Technique de Quelme et Houal } \frac{16,05}{1}$$

$$3^{\circ} \text{ Technique de Laroche et Virmeaux } \frac{1,72}{1}$$

Résultats personnels. — Nous avons établi notre comparaison en homogénéisant des crachats négatifs à l'examen direct mais positifs à l'homogénéisation par l'antiformine à 15 o/o ; nous avons complété nos résultats en homogénéisant des crachats moyennement bacillaires ; tous ces résultats ont été notés au tableau XIII.

Notre classification diffère de celle de Darbès ; nous accordons en effet la supériorité à la technique de Quelme et Houal tant au point de vue du plus fort taux de concentration bacillaire qu'au point de vue de la meilleure adhérence de la préparation sur la lame ; malgré toutes les précautions indiquées par Darbès pour faire adhérer les préparations à l'aide de l'huile de vaseline acétique, celles-ci se décolent encore assez fréquemment. De plus la coloration par la fuchsine de Ziehl nous fait préférer nettement la technique de Quelme et Houal à celle de Darbès. La technique de Laroche et Virmeaux s'est toujours montrée inférieure, même après avoir attendu six heures pour la collection des bacilles à la surface du liquide.

TABLEAU XIV
Résultats de Joetten

Cra- chats	Antiformine	Brauer	Dittborn	Antiformine	Brauer	Dit- thorn
	Nombre de bacilles par champs			Champs négatifs à l'examen des préparations		
1	8	15	14			
2	190	75	11			
3	5	7	8			
4	39	485	176			
5	26	11	2			
6	6	85	32	4	0	0
7	0	0	2	10	7	10
8	6	54	48	4	2	0
9	8	171	84	2	0	0
10	9	6	5	0	5	0
11	0	0	0	10	10	10
12	2	80	7			
13	0	0	0			
14	0	∞	∞			
15	3	93	60			
16	0	0	0			
17	1	4	0	5	7	6
18	354	12	104	2	7	0
19	5	0	6	6	4	0
20	2	16	0,8	2	0	6
21	3	0	1	4	10	6
22	5	0	17	2	0	0
23	0	4	0			
24	0	4	0			
25	0	25	4			
26	5	34	3	2	3	4
27	24	11	14	0	1	2
28	∞	7	59	0	1	0
29	∞	1	34	0	1	2
30	27	1	12	0	3	0
31	3	3	2	0	1	2
32	5	24	2	5	1	2
33	6	43	7	6	3	7
34	17	21	12	17	24	12
35	3	10	2	3	43	2
36	2	0,2	9	2	21	9
37	17	10	27	0	0	0
38	0,5	0,2	0,9	7	7	9
39	5	5	2	2	1	2
40	6	5	2			
41	13	9	2	0	0	3
42	3	0,8	1	3	7	4
43	1,5	6,2	2	4	8	3
44	0,2	1	0,3	9	10	8
45	7	0,7	0	0	8	10
46	0	0	0	10	10	10
47	11	1,3	0,9	4	6	5
48	0,1	2,4	1,5	9	4	3

Cra- chats	Antiformine	Brauer	Ditthorn	Antifor- mine	Brauer	Dit- thorn
49	2	0,1	9	6	9	0
50	8	3	∞	0	9	0
51	100	∞	∞	0	0	0
52	2	20	26	3	1	0
53	61	77	66	1	0	0
54	0,5	0,6	5	6	7	1
55	0,1	0	0	9	10	10
56	1,2	5	9	5	3	0
57	0	0	0,1	10	10	10
58	0	0	0	10	10	10
59	4	7	36	4	4	0

Moyenne par champ	16	20	20	Moyenne des champs négatifs	18	22	14
----------------------	----	----	----	--------------------------------------	----	----	----

Comparaison des techniques collectant les bacilles dans un précipité chimique

Résultats de Jøetten (1). — C'est le travail le plus démonstratif sur la valeur comparée des deux techniques de Ditthorn et de Brauer. Cet auteur a établi ses comparaisons d'après la plus forte moyenne bacillaire par champ microscopique, et d'autre part d'après le nombre de champs négatifs observés à la lecture de toute une préparation.

Nous avons relevé les tableaux de Jøetten (XIV) et nous voyons, d'après les résultats qui y sont exposés, que les deux nouvelles techniques d'homogénéisation ont une moyenne de 20 bacilles par champ alors que la technique de Lorentz ne permet de découvrir dans les mêmes conditions que 16 bacilles. Les préparations des crachats homogénéisés par la technique de Lorentz ont montré 18 champs négatifs, 22 par celle de Brauer et 14 par celle de Ditthorn.

Résultats de Ditthorn, Werner et Schultz (2). — Ils ont comparé leur technique à celle de Lorentz. A l'aide des moyennes bacillaires que nous avons notées au tableau XV nous avons pu calculer le taux de concentration bacillaire, des

1. Jøetten, *Arb. a. d. Reichamtgeamtheit*, 1920, t. 52, p. 103.

2. Ditthorn, Werner, Schultz, *Centralblatt für Bakt.*, 31 mars 1917, t. 79.

crachats homogénéisés par les deux procédés. La moyenne bacillaire par champ microscopique à l'examen direct peut être évaluée à 53,7; après homogénéisation par l'antiformine cette moyenne s'élève à 68, et après homogénéisation suivant le procédé de Ditthorn et Schultz elle atteint 103. Le taux de concentration bacillaire est de $\frac{12}{10}$ pour la première méthode,

de $\frac{19}{10}$ pour la seconde; la différence est donc peu appréciable surtout si l'on a soin de remarquer que l'antiformine employée par les expérimentateurs était de mauvaise qualité, inconvénient qui n'existe plus à l'heure actuelle.

TABLEAU XV

Crachats	Examen direct	Antiformine	Perchlorure de fer
1	16 bac. par 10 ch.	20 bac. par 10 ch.	57 b. ts les 10 ch.
2	54 —	195 —	165 —
3	94 —	Incomptable	Incomptable
4	22 bac. par 20 ch.	22 b. ts les 20 ch.	28 b. ts les 20 ch.
5	16 bac. par 10 ch.	25 b. ts les 10 ch.	55 b. ts les 10 ch.
6	10 —	36 —	47 —
7	126 —	79 —	135 —
8	61 —	105 —	163 —
9	136 —	85 —	190 —
10	10-20 b. par champ	100 —	Incomptable

Résultats d'Engelsmann (1). — 1398 crachats ont été homogénéisés par la technique de Lorentz, 317 ont été positifs (22,7 o/o); 139 autres crachats ont été homogénéisés suivant la technique de Ditthorn, 45 ont été positifs (21,2 o/o).

Quatre homogénéisations par l'antiformine décelèrent le bacille qui n'avait jamais été découvert par les examens directs précédents (1,3 o/o). La technique de Ditthorn expérimentée sur les 139 crachats permit de découvrir une seule fois le bacille de Koch au premier examen (2,2 o/o).

Si nous comparons ces deux techniques au point de vue quantitatif, nous voyons que, parmi les 317 crachats homogénéisés par l'antiformine, 197 furent enrichis en bacille de Koch d'une façon incontestable (62 o/o), soixante-treize fois

1. Engelsmann, *Deutsche med. Wochenschrift*, t. 44, p. 11-13.

l'enrichissement fut moindre (23 o/o), quarante-huit fois l'homogénéisation fut nulle (15 o/o).

Les crachats homogénéisés par la technique de Ditthorn donnèrent vingt et une fois un accroissement de bacilles (46 o/o), dix-sept fois les bacilles furent nombreux (37,7 o/o), et quatre fois l'homogénéisation échoua (8,8 o/o).

Hundeshagen (1) a comparé ces techniques à celle de Uhlenhut-Xylander légèrement modifiée par lui. Il estime que les résultats de la technique à l'antiformine sont toujours les meilleurs.

Comparaison des techniques d'enrichissement par autolyse des crachats tuberculeux avec les techniques d'homogénéisation.

Les techniques d'enrichissement en bacilles de Koch par autolyse exigent le minimum de manipulations qu'une technique d'enrichissement peut comporter ; aussi, dès le début des expériences de MM. Bezançon, Philibert et Mathieu différents auteurs se sont-ils appliqués à comparer ces nouvelles méthodes avec les anciennes homogénéisations sodiques et par l'antiformine.

L'étude des crachats bacillifères à l'examen direct permet de se faire une idée sur la valeur comparée de ces méthodes, en rapprochant les taux moyens d'enrichissement fournis par chacune d'elles.

L'étude des crachats négatifs à l'examen direct fixe sur leur valeur pratique en montrant le pourcentage de crachats en réalité bacillifères qu'elles décèlent.

I. — COMPARAISON DES TECHNIQUES D'AUTOLYSE ET DES TECHNIQUES D'HOMOGENÉISATION D'APRÈS LE TAUX DE CONCENTRATION BACILLAIRE.

Résultats de MM. Léon Bernard et Coste (2). — Ce travail est le plus démonstratif et celui qui a définitivement résolu la question. Les expériences ont porté sur 165 crachats bacillifères, qui ont été enrichis soit par les homogénéisations anciennes soit par l'autolyse à la chaleur.

1° Cinquante-trois crachats ont été examinés et homogénéisés par l'antiformine à 15 o/o. Il y a eu un échec total (disparition complète des bacilles après homogénéisation).

1. Hundeshagen, *Centralblatt f. Bakt.*, t. LXXXII, p. 14-28.

2. Léon Bernard et Coste, *Revue de la Tuberculose*, n° 1, 1923.

Sur les 52 crachats restants, le taux moyen d'enrichissement est de $\frac{108,5}{1}$. Toutefois le chiffre trouvé après homogénéisation fut inférieur ou simplement égal au chiffre de l'examen ;

2° Quarante-cinq crachats ont été homogénéisés par la technique simplifiée de Bezançon et Philibert à la lessive de soude. Il y eut deux échecs complets. Sur les 43 autres crachats, le taux d'enrichissement fut de $\frac{65,6}{1}$. Quatre fois le chiffre après homogénéisation se trouvait inférieur à la moyenne bacillaire par champ microscopique fournie par l'examen direct.

3° Quatre-vingt-dix crachats ont été autolysés à 38 degrés ; il y eut 10 échecs complets (dont un certain nombre dus à l'adhérence insuffisante à la lame). Sur les 87 autres, le taux moyen d'enrichissement fut de $\frac{23,4}{1}$. Onze fois le chiffre des bacilles après enrichissement restait égal ou inférieur au chiffre de l'examen direct.

TABLEAU XVI
Résultats de Caussade et Cribier

Crachats	Examen direct	Ellermann	Autolyse
1	2/pr.	0,2	2-3/pr.
2	10/pr.	14/pr.	3/pr.
3	0	2-3/ch.	5-6/ch.
4	3-4/ch.	6-7/ch.	6-8/ch.
5	1-3/ch.	5-6/ch.	15-20/ch.
6	3-4/ch.	30-40/ch.	90-100/ch.
7	4-5/ch.	25-30/ch.	40/ch.
8	3-4/ch.	3-4/ch.	4-5/ch.
9	4-5/ch.	15-20/ch.	40-50/ch.
10	6-8/ch.	10/ch.	20-25/ch.

Dix crachats ont été autolysé simultanément à 38 degrés et à 50 o/o ; ils ont donné des taux respectifs de $\frac{35,5}{1}$ et de $\frac{34,8}{1}$.

Vingt-six crachats ont été autolysés en tubes couchés, ils

TABLEAU XVII
Résultats personnels

Cra- chats	Examen direct	Autolyse à 38°	Antiformine	Autolyse et homogénéisation combinées
	Nombre de bacilles par champ microscopique			
1	1,1	16,1		
2	4,6	29,3		
3	1,7	décollement		
4	0,6	23		
5	1,3	14		
6	»	2		
7	1,8	19,7		
8	1	15,4		
9	8-10	80		
10	3-4	45-50		
11	4-5	décollement		
12	1-2	7-8		
13	16-25	20-25	400	450-500
14	5-7	échec	20-30	50
15	8-10	40-50	300	150-200
16	3-4	25-30		
17	4-5	20-30	30-40	50-80
18	5-7	40-50		300
19	5-7	30-40	100	50-60
20	5-7	50-60	200	150-200
21	»	décollement	1	1
22	1-2	10	25-30	25-30
23	0	3-4	9-10	10-15
24	0	décollement		
25	0	décollement		
26	5-6	50-60	100-150	
27	3-4	30-40	40-50	40-50
28	7-8	20-25	250	200-250
29	8-10	80-100		300-400
30	8-10	100		150-200
31	8-10	60-80		150-200
32	5-7	4-5		15-20
33	0	décollement		1
34	4-5	échec		25-30
35	0	échec		
36	0	4-5		8-10
37	0	décollement		
38	0	10-15		20-30
39	0	décollement		
40	4-5	25-30	40-50	25-30
41	2-3	décollement	10	10
42	4-5	20	25-40	20-30
43	7-8	50-60		50-100
44	4	échec		60-80
45		40-50	150-200	250-300
46		1-2	15-20	15-20
47		échec	150-200	200-250
48		1-2	4-5	4-5
49	4-5	50-60	100	50-60
50	8-10		50	100-150

ont donné un taux moyen d'enrichissement de $\frac{52,2}{1}$; 14 d'entre eux ont été parallèlement autolysés à 38 degrés en tube droit et en tube couché, l'autolyse en tube droit a donné un taux d'enrichissement égal à $\frac{1,4}{1}$ et l'autolyse en tube couché un taux d'enrichissement égal à $\frac{65,6}{1}$.

Résultats comparatifs de Caussade et Cribier (1). — Ils ont comparé les techniques d'autolyse à 38 degrés en tube droit avec la technique d'Ellermann-Erlandsen. Nous avons consigné leurs résultats au tableau XVI; d'après ceux-ci nous voyons que le coefficient de concentration bacillaire des crachats homogénéisés varie entre $\frac{4,1}{1}$ et $\frac{5,3}{1}$, celui des crachats autolysés varie entre $\frac{7,5}{1}$ et $\frac{8,8}{1}$. Mais les auteurs ne signalent pas le nombre d'insuccès de la méthode dus au décollement de la préparation, de ce fait la valeur des résultats exposés est beaucoup moindre (Voir p. 97).

Résultats personnels. — Nous avons étudié comparativement l'enrichissement par autolyse et l'enrichissement par l'antiformine en nous adressant à 50 crachats de richesse bacillaire variable, l'autolyse s'est faite à 38 degrés pendant quatre jours, 25 crachats ont été homogénéisés parallèlement par la technique de Lorentz. Nous avons résumé l'ensemble de nos recherches au tableau XVII, elles sont entièrement conformes à celles de MM. Léon Bernard et Coste; en effet nous estimons de $\frac{10}{1}$ à $\frac{15}{1}$ le coefficient de concentration bacillaire des crachats autolysés alors que celui des crachats homogénéisés par l'antiformine à 15 o/o peut être évalué de $\frac{20}{1}$ à $\frac{25}{1}$.

Résultats comparatifs de I. de Jong et Hillemand (2). — Ces auteurs ont établi une comparaison entre la technique d'autolyse des crachats à 38 degrés et la tech-

1. Caussade et Cribier, *Société médicale des hôpitaux*, 13 janvier 1923.

2. I. de Jong et Hillemand, *Société médicale des Hôpitaux de Paris*, 26 mai 1922, 828-832.

nique d'homogénéisation sodique de Bezançon et Philibert en se servant de crachats négatifs à l'examen direct. Les deux techniques se sont montrées égales si l'on considère leur valeur pratique puisqu'elles donnèrent le même nombre de résultats positifs nouveaux, mais la moyenne bacillaire par champ microscopique a été de 18 pour les étalements de crachats autolysés alors qu'elle était de 2,6 pour les étalements de crachats homogénéisés. Nous avons publié les résultats qui nous ont permis d'obtenir ces chiffres au tableau XVIII.

TABLEAU XVIII
Résultats de I. de Jong et Hillemand

Crachats	Examen direct	Lessive de soude	Autolyse
1	0	4-5	5-6
2	»	5-10	3-4
3	»	3-10	1-2
4	»	2-3	20
5	»	rares	rares
6	»	1-2	5-6
7	»	1-2	1-2
8	»	4-6	8-10
9	»	2-3	25-30
10	»	5-6	50-60
11	»	3-4	100
12	»	1-2	2
13	»	2-3	1-2
14	»	+	rares
15	»	+	rares
16	»	+	3-4
17	»	+	2
18	»	+	50
19	»	+	3-6
20	»	+	2-3

Résultats comparatifs de Jorgensen (1). — Il nous a paru intéressant de signaler un travail ancien de vingt ans où les techniques d'autolyse étaient connues et comparées avec les techniques d'homogénéisation par l'antiformine et par la lessive de soude. Voici les trois classifications adoptées par cet auteur suivant qu'il s'est adressé à des crachats *beau-*
coup, morennement ou *peu* baccillifères à l'examen direct :

1. Jorgensen, cité par Lucas. Thèse de Paris, 1913.

Première série

Taux de concentration bacillaire des crachats homogénéisés par la technique d'Ellermann	$\frac{114,8}{1}$
Taux de concentration bacillaire des crachats homogénéisés par l'antiformine	$\frac{42}{1}$
Taux de concentration bacillaire des crachats autolysés à 38°.	$\frac{19,2}{1}$

Deuxième série

Taux de concentration bacillaire des crachats homogénéisés par la technique d'Ellermann	$\frac{15,4}{1}$
Taux de concentration bacillaire des crachats autolysés à 38°.	$\frac{9}{1}$
Taux de concentration bacillaire des crachats homogénéisés par l'antiformine	$\frac{2,6}{1}$

Troisième série

Taux de concentration bacillaire des crachats homogénéisés par la technique d'Ellermann	$\frac{34}{1}$
Taux de concentration bacillaire des crachats homogénéisés par l'antiformine	$\frac{10}{1}$
Taux de concentration bacillaire des crachats homogénéisés par autolyse à 38°.	$\frac{9}{1}$

II. — COMPARAISON DES TECHNIQUES D'AUTOLYSE ET DES TECHNIQUES D'HOMOGÉNÉISATION D'APRÈS LEURS RÉSULTATS PRATIQUES.

Nous savons que c'est en expérimentant sur des crachats négatifs à l'examen direct provenant de malades suspects de tuberculose que l'on peut établir une semblable comparaison.

Résultats de MM. Léon Bernard et Coste (1). — Soixante-trois crachats négatifs ont été homogénéisés par la technique à l'antiformine ; il y a eu 5 résultats positifs, mais dans ces 5 cas, latence bacillaire par champ, après homogénéisation, était respectivement de : 10,45, $\frac{1}{5}$, $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{10}$. Le pourcentage des résultats positifs est de 7,9 o/o, mais, d'après la définition du taux d'enrichissement, on voit que dans les deux premiers cas le bacille aurait dû être trouvé à l'examen direct et a échappé par suite d'une malchance d'étalement ; si plusieurs lames pour l'examen direct avaient été préparées on aurait trouvé le bacille.

Dix crachats ont été homogénéisés par la soude, un seul résultat a été positif (= 100 bacilles par champ) ; l'examen direct long et répété aurait dû en déceler.

Quatre-vingt-onze crachats ont été autolysés à 38 et à 50 degrés il y a eu 8 résultats positifs, mais comme précédemment deux fois les bacilles auraient dû être découverts à l'examen direct ; en les comptant pourtant le pourcentage des résultats positifs est de 8,7 o/o.

Résultats de Mlle Satterlee (2). — Cinquante crachats négatifs à l'examen direct ont été homogénéisés par la technique de Lorentz et par la technique sodique simplifiée ; dans les 2 cas il y eut 3 résultats positifs soit une proportion de 6 o/o, mais nous ajoutons que pour deux de ces crachats, l'examen direct révéla la présence du bacille de Koch le lendemain et pour le troisième le surlendemain.

La méthode d'enrichissement par autolyse a été mise en œuvre dans 43 cas, dans 7 cas l'autolyse a été rendue impossible faute de crachats fournis en quantité suffisante.

Elle n'a permis de retrouver le bacille que dans un seul cas, l'un des trois dont nous venons de parler. Sur ces 3 cas, il y a eu par cette méthode un positif et un négatif, le troisième n'a pas pu être examiné par la technique d'autolyse. Nous obtenons ainsi, en faveur de cette méthode, un pourcentage de 2,3 seulement, mais nous voyons qu'il y a lieu de faire des réserves du fait que tous les crachats n'ont pu être examinés de la même manière.

1. Léon Bernard, art. cité.

2. Satterlee, *Revue de la Tuberculose*, 1^{re} janvier 1913, n° 1.

Résultats de MM. Bezançon, Philibert et Mathieu(1).
— 227 crachats négatifs aux examens directs et homogénéisations ont été autolysés à 37 degrés ; deux cent fois l'enrichissement fut négatif, vingt et une fois l'enrichissement permit de déceler le bacille de Koch qui était passé inaperçu par les autres méthodes, c'est-à-dire dans une proportion de 8,8 o/o.

Résultats personnels. — Cinq crachats précédemment positifs à l'homogénéisation en usage aux Sanatoriums de Bligny ont été autolysés cinq jours à 38 degrés ; ces crachats s'étaient révélés fort peu bacillifères à l'homogénéisation, l'autolyse se montra incapable de déceler le bacille de Koch qui avait été mis précédemment en évidence. Cependant nous ajouterons que dans un cas deux homogénéisations pratiquées un mois plus tard à intervalles de trois semaines se montrèrent négatives ; mais dans un autre cas ce fut l'examen direct qui, quelques semaines après, révéla l'existence du bacille de Koch qui était passé inaperçu par l'autolyse.

Comparaison des techniques d'autolyse à 38 degrés et d'homogénéisation avec les techniques d'autolyse suivies d'homogénéisation du culot.

MM. Léon Bernard et Coste n'ont utilisé ce dernier procédé que deux fois ; les taux d'enrichissement définitifs furent $\frac{50}{1}$ et $\frac{143}{1}$ contre $\frac{8,5}{1}$ et $\frac{17}{1}$ par l'enrichissement à 38°.

Il est logique que cette méthode se révèle supérieure à l'homogénéisation simple puisque la lyse préalable du crachat permet une action plus rapide de l'antiformine.

Nous avons pratiqué vingt fois l'homogénéisation par l'antiformine à 15 o/o du culot de sédimentation des crachats autolysés. Parallèlement les mêmes crachats fraîchement recueillis ont été homogénéisés par la technique de Lorentz. Dans l'ensemble le premier procédé ne s'est guère montré supérieur au second, quelquefois même il a été inférieur ; vraisemblablement l'action de l'antiformine, même diluée, a été trop brutale, la désinfection des crachats commençait à se produire et se serait poursuivie si l'on avait prolongé l'action de cette substance chimique (Voir tableau XVII, p. 98).

1. Bezançon, Philibert et Mathieu. C. R. Biologie, 25 mars 1922.

Dans une autre série d'expériences, 10 crachats ont été autolysés à 38 degrés et le culot de sédimentation a été ensuite homogénéisé par la technique de Quelme et Houal. Parallèlement quelques-uns de ces mêmes crachats, fraîchement recueillis, ont été homogénéisés par la technique de Lorentz, ce dernier procédé s'est encore montré supérieur à l'enrichissement par autolyse simple et à l'enrichissement par autolyse combinée avec l'homogénéisation de Quelme et Houal; néanmoins cette dernière combinaison est supérieure à l'enrichissement par séjour à l'étuve des crachats et à la simple homogénéisation de Quelme et Houal (V. tabl. XIX).

En résumé de ces différentes études comparatives des techniques d'homogénéisation et d'enrichissement nous dégageons que le meilleur procédé est celui qui donne le plus fort taux de concentration bacillaire, qui demande en même temps le minimum de matériel et de manipulation et enfin le minimum de crachats. Tout procédé exigeant une quantité de crachats purulents supérieure à 10 centimètres cubes est à rejeter, or nous savons que c'est surtout dans les tuberculoses discrètes, fournissant très peu d'expectoration, que l'on a le plus souvent recours à l'homogénéisation.

Les techniques d'homogénéisation par l'antiformine suivant les indications de Calmette ou de Lorentz sont celles qui répondent le mieux aux trois desiderata précédemment formulés. En vingt ou vingt cinq minutes les culots sont établis prêts pour la coloration.

L'homogénéisation sodique, même simplifiée, apparaît plus longue, plus désagréable, sans avantages compensateurs. La technique de Quelme et Houal, collectant les bacilles à la surface du liquide homogénéisé sans centrifugation, donne de très bons résultats, elle peut rendre des services utiles à celui qui ne dispose que d'un outillage bactériologique réduit.

La puissance de concentration bacillaire des crachats autolysés à 38 degrés est nettement inférieure à celle des meilleures techniques d'homogénéisation; de plus les étalements de crachats autolysés adhèrent mal à la lame, malgré toutes les précautions (dessiccation prolongée, flambage des lames à l'alcool, coloration par le Ziehl à froid, fixation par l'alcool-éther), les échecs deviennent de ce fait encore assez nombreux.

Les méthodes d'enrichissement par séjour à l'étuve sont

améliorées dans des proportions intéressantes en homogénéisant le culot de sédimentation par les techniques de Quelme et Houal ou de Darbès.

TABLEAU XIX
Résultats personnels

Crachats	Examen direct	ENRICHISSEMENT par autolyse	Antiformine à 15 o/o	Hom. de Quelme, du culot d'autolyse
	Nombre de bacilles par champ microscopique			
1	4	7-8	70	11
2	0	1	4-5	1-2
3	8-10	80		200-250
4	5-7	30-40		100-150
5	11-15	20-50	incomptable	90
6	5-7	70-80		200
7	0	0	0	0
8	2	35	45-50	70
9	10-12	100	incomptable	incomptable
10	0	3	6	6

CHAPITRE III

Valeur comparée des techniques d'inoculation de crachats tuberculeux

Nous avons comparé les trois techniques d'inoculation par voies intra-hépatique, intra-péritonéale et sous-cutanée. Nous nous sommes adressés à cinq crachats de richesse bacillaire variable que nous avons injectés chacun à trois cobayes ; le premier cobaye a reçu une inoculation dans le foie, le second dans le péritoine et le troisième sous la peau. Les animaux ayant reçu les inoculations intra-hépatique et intra-péritonéale ont été toujours choisis d'un poids supérieur à 400 grammes. Les germes d'association secondaire ont été détruits suivant la technique d'Aubertin et Fontan. Nous avons noté dans un tableau les variations de poids notés tous les cinq jours (Voir tableau XX).

TABLEAU XX

Date	Poids des cobayes inoculés dans le foie					Poids des cobayes inoculés dans le péritoine					Poids des cobayes inoculés sous la peau				
	1	2	3	4	5	1	2	3	5	1	3	4	5		
15- 9-23	125 ^{gr}					603 ^{gr}				495 ^{gr}					
20- 9-23	358 ^{gr}					560 ^{gr}	426 ^{gr}			485 ^{gr}					
1-10-23	mort	173 ^{gr}				490 ^{gr}	344 ^{gr}			473 ^{gr}					
5-10-23		400 ^{gr}				441 ^{gr}	418 ^{gr}	500 ^{gr}		393 ^{gr}					
12-10-23		463 ^{gr}	505 ^{gr}			467 ^{gr}	292 ^{gr}	357 ^{gr}	457 ^{gr}	396 ^{gr}	390 ^{gr}				
19-10-23		mort	347 ^{gr}	520 ^{gr}	467 ^{gr}	mort	338 ^{gr}	mort	443 ^{gr}	415 ^{gr}	320 ^{gr}	351 ^{gr}			
26-10-23			mort	495 ^{gr}	442 ^{gr}		348 ^{gr}		450 ^{gr}	443 ^{gr}	334 ^{gr}	333 ^{gr}	359 ^{gr}		
30-10-23				62 ^{gr}	443 ^{gr}		385 ^{gr}		440 ^{gr}	397 ^{gr}	315 ^{gr}	339 ^{gr}	378 ^{gr}		
15-11-23				356 ^{gr}	341 ^{gr}		367 ^{gr}		426 ^{gr}	398 ^{gr}	mort	356 ^{gr}	345 ^{gr}		
10-11-23					mort					mort		306 ^{gr}	321 ^{gr}		

Le crachat I contenait des bacilles de Koch seulement à l'homogénéisation (H³ de l'échelle du Dr Guinard), il a été inoculé dans le foie, dans le péritoine et sous la peau de

trois cobayes. L'inoculation intra-hépatique a provoqué une infection tuberculeuse manifeste dès le cinquième jour, l'amaigrissement était de 67 grammes et la cuti-réaction faiblement positive. La mort survint dès le onzième jour, on notait surtout des points caséux disséminés à la surface du foie et de la rate dans lesquels il était facile de mettre le bacille de Koch en évidence. A noter l'absence de lésions pulmonaires et ganglionnaires.

L'inoculation du même crachat dans le péritoine provoqua la mort au bout d'un mois; les manifestations cliniques de tuberculose expérimentale sont apparues vers le vingtième jour date à laquelle la cuti-réaction s'est montrée positive; l'amaigrissement total a été de 136 grammes. Les lésions anatomiques étaient plus accentuées que précédemment, mais on ne notait rien au niveau des poumons. Quelques ganglions trachéo-bronchiques ont été prélevés, l'examen direct d'un de leurs étalements a permis de mettre en évidence une pullulation de bacilles de Koch longs.

L'inoculation sous-cutanée du même crachat a provoqué une cachexie lente et progressive, la cuti-réaction a été positive au bout du premier mois; on note un ganglion inguinal volumineux et douloureux non fistulisé; l'amaigrissement est progressif avec pourtant quelques périodes de rémission.

Le crachat II a été inoculé seulement dans le foie et dans le péritoine. L'examen direct et l'homogénéisation n'avaient pas permis d'y reconnaître la présence du bacille de Koch.

L'inoculation intra-hépatique entraîna en cinq jours un amaigrissement de 73 grammes, l'animal succomba onze jours après l'inoculation. A l'autopsie on nota un aspect mosaïqué et feuille-morte de la rate, le foie paraissait macroscopiquement normal. Des étalements de ces deux organes permirent de découvrir 4 à 5 bacilles par préparation.

L'inoculation intra-péritonéale du même crachat a entraîné en un mois un amaigrissement de 78 grammes, la cuti-réaction est positive.

Le crachat III était fortement bacillifère (B4), il a été inoculé dans le foie, dans le péritoine et sous la peau. L'inoculation intra-hépatique provoqua des manifestations toxiques particulièrement importantes, la mort survint le neuvième jour; les lésions anatomiques étaient évidentes et prédomi-

naient surtout au foie et à la rate, mais elles furent incapables de provoquer à elles seules la mort de l'animal.

L'inoculation intra-péritonéale du même crachat provoqua la mort dès le onzième jour au milieu des symptômes observés précédemment.

Le crachat IV a été inoculé dans le foie et sous la peau ; ce crachat s'est révélé bacillaire à l'homogénéisation (H^4). Les manifestations cliniques sont les mêmes que pour ceux inoculés dans les mêmes conditions, l'amaigrissement en dix jours a été de 38 grammes pour l'animal qui a reçu l'inoculation intra-hépatique alors qu'il a été de 12 grammes pour celui qui a reçu l'inoculation sous-cutanée.

Le crachat V positif à l'homogénéisation (H^2) a été inoculé dans le foie, dans le péritoine et sous la peau. L'inoculation intra-hépatique a provoqué un amaigrissement de 24 gr. en dix jours ; l'intra-péritonéale dans les mêmes conditions a provoqué un amaigrissement de 7 grammes ; l'inoculation sous-cutanée a provoqué un amaigrissement de 10 grammes en dix jours.

En résumé, de cette étude comparative nous dégageons que les inoculations intra-hépatique et intra-péritonéales sont celles qui donnent les résultats les plus rapides. Nous accordons néanmoins la préférence à l'inoculation intra-hépatique. C'est une opération des plus simples, elle exige seulement une préparation minutieuse des crachats ; jamais nous n'avons eu à enregistrer d'échecs dus aux infections secondaires ; dès le quinzième jour on trouve des lésions anatomiques manifestes permettant de porter le diagnostic de tuberculose, alors que les crachats ont été négatifs à l'examen direct et à l'homogénéisation.

TROISIÈME PARTIE

VALEUR COMPARÉE DES MÉTHODES BACILLOSCOPIQUES ENTRE ELLES

CHAPITRE PREMIER

COMPARAISON DE LA MÉTHODE D'HOMOGÉNÉISATION AVEC L'EXAMEN DIRECT

La méthode d'homogénéisation a été l'objet durant ces dernières années de sérieuses critiques. Sa valeur pratique fut mise en discussion notamment dans une séance de la section d'Etudes scientifiques de l'Œuvre de la Tuberculose (1) où de nombreux auteurs communiquèrent leurs résultats.

Résultats de MM. Bezançon et Philibert. — Ces auteurs ont apporté deux statistiques ; la première est empruntée à leur service de l'hôpital Boucicaut, la seconde a été établie avec les résultats des examens de crachats des malades d'une société ; dans les deux cas, l'homogénéisation n'a été pratiquée qu'après plusieurs examens directs méticuleux : 1° Sur 428 crachats examinés, on a trouvé quatre-vingt-dix fois les bacilles de Koch à l'examen direct, vingt-sept fois après l'homogénéisation. Sur 117 cas où la tuberculose a été démontrée par l'examen des crachats, elle le fut dans 25 o/o des cas par l'homogénéisation. Mais si l'on considère la totalité des crachats examinés, on voit que cette méthode n'a fourni de résultats positifs nouveaux que dans une proportion de 6,31 o/o ; 2° 80 crachats ont été examinés, vingt-six fois on trouva des bacilles par l'examen direct et huit fois après homogénéisation, c'est-à-dire encore dans un

1. *Revue de la Tuberculose*, n° 2, 1923.

quart des cas, mais l'homogénéisation ne donna de résultats positifs nouveaux que dans une proportion de 10 o/o.

Résultats de MM. Buc, Brodriez et Picat. — Six cent quatre-vingt-six homogénéisations ont été effectuées sur des crachats non bacillifères à l'examen direct, provenant de malades du Sanatorium Villemin à Angicourt; 132 ont donné un résultat positif soit 19,2 o/o. Ces 132 résultats positifs se rapportent à 80 malades; pour 15 d'entre elles, l'homogénéisation seule a pu déceler le bacille de Koch, tous les examens directs ayant été constamment négatifs pendant tout le séjour au Sanatorium soit une proportion de 18,7 o/o. Les 554 homogénéisations négatives ont été faites le plus souvent en séries chez la même malade pour confirmer l'absence ou la disparition des bacilles antérieurement constatées par des examens directs répétés.

Résultats de MM. Albert Bezançon et A. Philippe. — Trois cent quatre-vingt-quatre homogénéisations ont été exécutées à la station sanitaire de la côte Saint-André (Isère), pour des malades dont les crachats examinés par les procédés classiques n'avaient pas montré de bacilles de Koch. Ces auteurs ont eu 119 résultats positifs par le procédé de Bezançon et Philibert, ce qui représente une proportion de 31 o/o. Ce très fort pourcentage s'explique par les grandes présomptions de tuberculose des malades hospitalisés, mais il reste un très grand nombre de cas négatifs, et ce qui est intéressant c'est que les homogénéisations ont décelé seulement de très rares bacilles (1 ou 2 à l'échelle de Gaffsky); on était donc bien en présence de crachats très peu bacillifères, chez lesquels des examens directs même répétés n'auraient pu déceler le bacille de Koch.

Résultats de I. de Jong. — Quatre cent trente-quatre examens de crachats ont été exécutés, 77 fois l'homogénéisation et l'examen direct ont été négatifs, 342 fois le bacille fut découvert à l'examen direct (78,7 o/o), 15 fois l'homogénéisation seule permit de le mettre en évidence (4,2 o/o).

Résultats de Cécile Paraf(1). — De janvier 1912 au 2 août 1914, 7412 crachats ont été examinés, provenant des 6216 malades du service de M. Léon Bernard et des consultations du dispensaire Léon Bourgeois. Les examens directs ont été faits selon la technique habituelle de la coloration de Ziehl,

1. Paraf, *Revue de la Tuberculose*, n° 2, 1923.

l'examen au microscope étant prolongé, le cas échéant, au plus une demi heure. L'homogénéisation était faite selon la technique de Lorentz. Ces examens ont fourni les résultats suivants : 5694 fois le bacille a été découvert à l'examen direct ; 206 fois seulement après homogénéisation ; 1512 fois les résultats furent négatifs par les deux méthodes. Ces faits mettent une fois de plus en lumière la valeur de l'examen direct des crachats fait dans de bonnes conditions.

L'utilité de l'homogénéisation n'est pas contestable, mais elle est très relative puisqu'elle n'a ~~pas~~ fourni de résultats positifs que dans 34 o/o des cas. 3.4

Résultats de M. le Dr Guinard. — Une première série d'homogénéisations a été pratiquée suivant la technique de MM. Bezançon et Philibert, la deuxième série d'homogénéisation a été pratiquée en suivant une technique voisine de l'antiformine ; ces recherches n'ont été effectuées qu'après de nombreux examens directs faits suivant la technique de Ziehl-Neelsen et répétés régulièrement toutes les trois semaines : 1° soixante-treize crachats négatifs à l'examen direct ont été homogénéisés, vingt-six fois les résultats furent positifs (35 o/o), mais il est à remarquer que quatorze fois les examens directs se montrèrent positifs à la suite des homogénéisations, de ce fait le pourcentage tombe à 19,20 o/o ; 2° quarante-neuf homogénéisations ont été pratiquées sur 49 crachats négatifs à l'examen direct, dix-huit fois le résultat fut positif, soit une proportion de 36,7 o/o ; mais, comme précédemment, neuf fois des examens directs et répétés décelèrent le bacille de Koch à la suite de l'homogénéisation, le pourcentage tombe de ce fait à 18,30.

Pour une période de trois ans nous avons calculé qu'au même sanatorium l'examen direct avait démontré la présence du bacille de Koch dans 59 o/o des cas, alors que l'homogénéisation ne donnait des résultats positifs nouveaux que dans 2 o/o des crachats examinés.

Résultats de Mlle Satterlee (1). — Cinquante crachats négatifs à l'examen direct ont été homogénéisés par la technique de Lorentz, trois fois les résultats positifs, c'est-à-dire *furent* dans une proportion de 6 o/o ; mais nous devons ajouter que, sur les crachats négatifs au premier examen, 2 se sont montrés positifs à un examen direct fait le lendemain et le

1. Satterlee, *Revue de la Tuberculose*, n° 1, 1923.

troisième à un examen fait le surlendemain de l'homogénéisation. Cette méthode n'apporta donc aucun résultat positif nouveau.

En résumé : l'examen direct répété et correctement fait des crachats suspects de tuberculose fournit un résultat positif dans une proportion de 60 à 70 o/o.

L'homogénéisation employée comme méthode de diagnostic bactériologique rapide fournit des résultats positifs dans une proportion de 20 o/o de la totalité des crachats examinés. Si cette méthode est employée après de multiples examens directs, répétés à intervalles réguliers, elle ne fournit plus de résultats positifs nouveaux que dans 3 ou 4 o/o des cas. Enfin 25 o/o des homogénéisations exécutées sur des crachats négatifs à l'examen direct sont positives.

Comparaison de la méthode d'inoculation aux cobayes des crachats suspects avec les méthodes d'examen direct et d'homogénéisation.

Résultats de Paraf (1). — Les expériences ont porté sur des crachats où la tuberculose était fortement soupçonnée mais où aucun bacille n'avait pu être découvert ni par l'homogénéisation ni par l'examen direct. Sur les 80 crachats inoculés, 61 tuberculisèrent les cobayes, c'est-à-dire dans une proportion de 73,4 o/o.

Résultats de MM. le Professeur Léon Bernard et Coste (2). — Quarante-neuf animaux ont été inoculés avec des crachats négatifs à l'homogénéisation et à l'examen direct répétés mais où les signes cliniques et radiologiques faisaient craindre le diagnostic de tuberculose, 4 cobayes sont morts d'infection secondaire (= 8,1 o/o); sur les 45 restants, 13 sont devenus tuberculeux (= 28,8 o/o).

Résultats de Mlle Satterlee (3). — Les inoculations au cobaye ont porté sur 50 animaux, mais une épidémie de pasteurellose ne permit de retenir que 17 inoculations; sur celles-ci 8 se montrèrent positives (= 47,7 o/o).

Résultats personnels. — Dix inoculations aux cobayes

1. *Revue tuberc.*, n° 2, 1923.

2. Art. cité.

3. Art. cité.

pour la recherche du bacille de Koch dans les crachats ont été pratiquées avec des expectorations provenant uniquement de malades porteurs de lésions pulmonaires suspectes. Les crachats avaient fait l'objet de nombreux examens directs répétés à intervalles réguliers et de plusieurs homogénéisations. Nous nous bornerons à exposer les résultats obtenus en les comparant à ceux qui ont été fournis parallèlement par les autres méthodes bacilloscopiques. On trouvera résumées plus loin les observations des sept malades dont les crachats ont été inoculés au cobaye.

I. — Les crachats mucopurulents assez abondants ont déjà fait l'objet d'inoculations comparatives; nous avons vu que dès le onzième jour le cobaye présentait des lésions anatomiques discrètes de tuberculose et qu'à leur niveau on pouvait déceler la présence du bacille de Koch.

II. — Les crachats ont été inoculés sous la peau; les manifestations de tuberculose expérimentale sont apparues très lentement vers le deuxième mois; le ganglion inguinal du côté du point d'inoculation, après être resté quelque temps assez volumineux, s'est fistulisé; en même temps l'état général a périclité; on note pendant cette période de deux mois un amaigrissement de 150 grammes. Ce n'est donc que vers cette époque que l'on put porter le diagnostic de tuberculose chez le cobaye, mais dès ce moment les examens directs pratiqués sur les expectorations du malade se montrèrent faiblement positives (n° 2 de l'échelle du Dr Guinard).

III. — Les crachats ont été inoculés sous la peau; ils furent jadis bacillifères; au moment de l'inoculation, les lésions pulmonaires étaient encore actives quoique évoluant vers la sclérose. Après trois mois d'inoculation toutes les manifestations de tuberculose expérimentale se sont traduites par un petit ganglion inguinal au point d'inoculation.

IV. — Les crachats hémoptoïques du malade ont été inoculés sous la peau. Au bout de trois mois d'observation on a pu constater un abcès de la région coxale droite assez volumineux et fluctuant; incisé, il a laissé échapper un pus crémeux amicrobien à l'examen direct; les suites opératoires ont été parfaites. Nous ajouterons que la recherche du bacille de Koch a été pratiquée dans les selles du malade et qu'elle s'est montrée négative. Les signes cliniques se limitaient à de la submatité du sommet du poumon droit avec de l'inégalité respiratoire, jamais on ne constata de râles

humides indiquant un foyer de ramollissement. L'exploration méthodique de ce malade doit donc être complétée par une laryngoscopie et une œsophagoscopie qui démontreront probablement le siège exact des hémorragies périodiques.

V. — Les crachats fournis par ce malade étaient fort peu abondants et ont été inoculés sous la peau de la cuisse ; au bout de trois mois d'inoculation l'animal a succombé aux suites d'un repas trop copieux. L'autopsie n'a révélé aucune lésion anatomique suspecte. Dans un cas semblable, où il s'agissait d'une volumineuse poussée congestive, MM. Causade et Cribier ont pensé que les bacilles pouvaient être bloqués et ne pouvaient s'éliminer au dehors. Nous signalerons également que les examens de selles ont été négatifs.

VI. — Les crachats sont très abondants et ont toujours été négatifs aux examens directs ; un premier cobaye inoculé ne tarda pas à succomber à une infection secondaire ; une deuxième inoculation fut pratiquée après lavage des crachats suivant la technique de Kitasato, après un mois d'inoculation, l'amaigrissement devint progressif et continu, et fut évalué à 145 grammes ; on nota à partir de ce moment un petit ganglion inguinal du côté du point d'inoculation.

VII. — Les crachats assez abondants ont été inoculés sous la peau. Après trois mois et demi d'inoculation on ne peut noter ni amaigrissement ni aucun signe clinique de tuberculose expérimentale. Voir note complémentaire page 116.

En résumé : les inoculations aux cobayes de crachats suspects donnent de précieux renseignements, si elles n'ont été précédées que par un nombre restreint d'examen directs ou d'homogénéisations. Dans ces conditions, les cobayes inoculés peuvent être sacrifiés vers le deuxième mois et à l'autopsie on découvre des lésions anatomiques manifestes de tuberculose expérimentale.

Si au contraire l'inoculation des crachats est pratiquée à la suite ou parallèlement aux examens directs répétés à intervalles réguliers tels qu'on les exécute dans les sanatoriums, sa valeur diagnostique pratique est moindre, car l'examen direct vient donner quelquefois un résultat positif bien avant la tuberculisation de l'animal ; celle-ci du reste est toujours fort lente, de trois à neuf mois, les crachats injectés étant très-peu bacillifères. Dans ces conditions, avec Brœuning et Wankel (*Deutsche med. Woch.*, 18 mai 1923), nous estimons à 35 o/o les résultats positifs nouveaux fournis par l'inoculation des crachats suspects.

**Extrait des observations des malades dont les crachats
ont été inoculés aux cobayes**

OBSERVATION I. — Infiltration fibro-caséuse discrète du lobe supérieur droit, plus accusée en arrière, dans la sus-épineuse et la moitié supérieure de la sous-épineuse. Crachats peu abondants, antérieurement positifs, mais négatifs à l'homogénéisation et après cinq examens directs pratiqués toutes les trois semaines.

OBSERVATION II. — T. fibro-caséuse à droite ; les foyers de fonte assez superficiels et discrets en arrière sont assez étendus et dépassent la moitié supérieure. Ils sont plus limités et plus profonds en avant. Volumineuse poussée congestive pleuro-pulmonaire de la moitié inférieure du poumon droit apparue le 15 mai 1923. Expectoration peu abondante, 6 examens directs précédant l'inoculation ont été négatifs mais les neuvième et dixième ont révélé la présence de rares bacilles de Koch. Absence de bacilles de Koch dans les selles.

OBSERVATION III. — Tuberculose fibro-caséuse à droite, lobe supérieur en avant, moitié supérieure en arrière, foyers de fonte plus profonds au sommet, superficiels et disséminés dans le reste de l'étendue. Tendance scléreuse. Expectoration intermittente, anciennement positive à l'examen direct, 9 examens directs pratiqués à intervalles réguliers ont été négatifs, 2 homogénéisations furent aussi négatives. Bacilloscopie douteuse dans les matières fécales.

OBSERVATION IV. — Localisation du lobe supérieur droit, forme hémoptoïque avec début de fonte très discret, à suivre pour confirmation du diagnostic.

Crachats hémoptoïques à intervalles irréguliers hebdomadaires ou bimensuels, ne s'accompagnant d'aucune variation thermique ni d'aucune modification dans les signes stéthoscopiques. Radioscopie normale. 12 examens directs négatifs, 2 homogénéisations négatives. Bacilloscopie négative dans les selles.

OBSERVATION V. — T. fibro-caséuse bilatérale occupant les deux lobes supérieurs. Foyers de ramollissement plus actifs au sommet gauche, particulièrement en avant. Poussée congestive pleuro-pulmonaire de toute la moitié inférieure du poumon gauche. Bacilloscopie négative après 14 examens directs, 2 homogénéisations négatives. Bacilloscopie négative dans les selles.

OBSERVATION VI.—Localisation fibro-caséuse bilatérale encore discrète, cependant plus accusée à droite en arrière avec foyer de fonte dans la zone d'alarme ; à gauche les points actifs sont plus accusés en arrière jusqu'à la limite des fosses sus et sous-épineuse, en avant dans la région claviculaire.

Radioscopie : Taches et marbrures des régions sus et sous claviculaires gauches. A droite, sommet gris ne s'éclairant pas à la toux. Expectoration muco-purulente assez abondante ; 18 examens de crachats espacés toutes les trois semaines, résultats négatifs ; 2 homogénéisations négatives.

OBSERVATION VII. — Fibro-caséuse à gauche, foyers denses dans la moitié supérieure en état de fonte, mais à marche lente. Localisations disséminées dans le reste de l'étendue. Emphysème.

Radioscopie : Thorax d'emphysémateux, espaces intercostaux larges, voile homogène sur toute la hauteur des deux champs pulmonaires. Sommets clairs. Cinématique diaphragmatique normale.

Note complémentaire : Trois inoculations intra-hépatiques de crachats très suspects ont été pratiquées ; en quatorze jours, deux des cobayes furent tuberculisés.

CHAPITRE II

COMPARAISON DES MÉTHODES DE CULTURE AVEC LES MÉTHODES D'EXAMEN MICROSCOPIQUE DIRECT ET D'HOMOGÉNÉISATION

Nous envisagerons cette comparaison sous deux aspects : 1° les crachatsensemencés sur milieu électif sont bacillifères à l'examen direct ou à l'homogénéisation ; dans quelle proportion y a-t-il culture du bacille de Koch contenu dans les crachats ; 2° Les crachatsensemencés sont négatifs à l'examen direct et à l'homogénéisation ; la méthode de culture est-elle capable d'obvier à l'insuffisance des deux anciennes méthodes ? Pour répondre à cette double question, nous avons recherché dans la littérature phtisiologique récente quel était le pourcentage des cultures positives de crachats bacillifères à l'examen direct. En outre, nous avons personnellement éprouvé la valeur pratique du milieu de Pétroff en ensemençant 10 crachats provenant de sujets suspects mais qui s'étaient montrés précédemment négatifs.

Résultats desensemencements de crachats bacillifères à l'examen direct et à l'homogénéisation sur milieu de Pétroff.

Résultats de Pétroff (1). — Cent trente-cinq crachats positifs ont étéensemencés chacun sur 4 tubes, 129 ont poussé en l'espace de une à six semaines, c'est-à-dire dans une proportion de 95, 55 0/0 ; il y a eu 4 tubes contaminés, soit une proportion de 5 0/0.

Résultats de Stewart (2). — Trente-sept crachats positifs ont étéensemencés chacun sur deux tubes, 24 fois le bacille

1. Petroff, *Journal expérimental of médecine*, XXI, 1915, p. 38.

2. Stewart, *Journal expérimental of médecine*, XXVI, déc. 1917, page 755.

a été isolé dans un délai de deux à six semaines, c'est-à-dire dans une proportion de 64,8 o/o; 6 tubes ont été contaminés (= 7 o/o).

Résultat de Mitchell et Simons (1). — Trente-cinq crachats bacillifères sont mis en culture; 28 résultats positifs dans les mêmes délais que précédemment (80 o/o), il y a lieu de noter un échec complet dû à la stérilisation du crachat par une action trop prolongée de la lessive de soude et 6 contaminations (17 o/o).

Résultats de Corper (2). — Soixante-neuf crachats bacillifères sont ensemencés sur milieu de Pétrof, 60 poussent dans l'espace de quinze jours à quatre semaines (= 87 o/o). Les contaminations de tubes sont évaluées à 5 o/o.

Résultats de Keitly (3). — Vingt-cinq crachats ont été ensemencés, 23 de ceux-ci appartenaient à des tuberculeux avancés, un seul s'est montré négatif à l'examen direct et un second provenait d'un sujet suspect de tuberculose. Il y eut 18 cultures, c'est-à-dire une proportion de 72 o/o; parmi ces 18 cultures, 12 furent évidentes dès la troisième semaine, 6 nécessitèrent l'emploi du microscope, 4 seulement furent contaminées.

Résultats des ensemencements de crachats bacillifères à l'examen direct sur milieu de Griffith-Lyall.

Résultats de Griffith (4). — Trente et un crachats ont été ensemencés sur le milieu œuf-foie de cheval, 26 cultures ont été obtenues (= 83,87 o/o), 5 résultats furent négatifs. Parmi les 26 cultures positives, 12 furent isolées à l'état de pureté, le pourcentage des tubes contaminés calculé sur 100 tubes est de 2,5 o/o.

Résultats de Lyall (5). — Cinquante-six crachats ont été ensemencés, 55 résultats sont positifs en quinze jours. Le pourcentage des cultures positives s'élève donc à 90 o/o. Le pourcentage des tubes contaminés est de 4,5 o/o.

1. Mitchell et Simons, *Journal American medicine Association*, 1915. L. XV, p. 38.

2. Corper, *Journal of infections Diseases*, 1918, p. 267-274.

3. Keitly, *Journal experimental of medicine*, 1916, page 41, t. 24, f. 2.

4. Griffith, *Lancet*, 1916. *British med. Journal*, 1914.

5. Lyall, *American Review of Tuberculosis*, 1922, p. 899-902.

Résultats de Burns (1). — Douze crachats moyennement bacillifères ont été ensemencés sur milieu de Lyall et ont donné 12 cultures en l'espace de huit à vingt jours. Comparativement les mêmes crachats avaient été ensemencés sur milieu de Dorset, tous les crachats donnèrent des cultures positives mais moins abondantes qu'avec le milieu œuf-foie de veau.

Résultats des ensemencements de crachats négatifs à l'examen direct et à l'homogénéisation sur milieu de Pétroff.

Résultats de Caussade et Cribier et résultats personnels. — Dans les deux catégories les crachats provenaient de malades manifestement tuberculeux, le diagnostic ayant été posé par la clinique et par la radiologie, seule la présence du bacille de Koch n'avait pas été révélée avant l'ensemencement par les méthodes ordinaires : examen direct ou homogénéisation.

MM. Caussade et Cribier ont ensemencé 5 crachats sur milieu de Pétroff, l'un de ceux-ci provenait d'une caverne en activité, les autres provenaient de lésions pulmonaires peu actives. Après un mois de séjour à l'étuve des tubes de milieu de Pétroff ensemencés, aucune colonie tuberculeuse ne s'est pas développée à la surface des milieux.

Les 10 crachats que nous avons ensemencés provenaient également de malades manifestement tuberculeux, certains même ayant eu des bacilles à l'examen direct des crachats, mais au moment de l'ensemencement ni la méthode directe, ni l'homogénéisation n'avaient mis en évidence le bacille de Koch. Après un mois de séjour à l'étuve il n'y avait pas encore de colonies tuberculeuses alors que des crachats bacillifères ensemencés en même temps donnaient depuis huit jours des colonies visibles à l'œil nu.

A noter particulièrement : les crachats de la malade de l'observation VIII (page 122) se sont montrés positifs à l'examen direct au cours d'une petite poussée fébrile survenue quelques jours après l'ensemencement.

Nous signalerons enfin que Keitly (2) a ensemencé 8 cra-

1. Burns, *American Review of Tuberculosis*, VI, déc. 1922.

2. Keitly, *Journal of exp. med.*, t. XXVI. f. 2, p. 41.

chats négatifs à l'examen direct et provenant de sujets suspects de tuberculose, jamais il n'a obtenu de culture dans les délais normaux.

Comparaison de la culture des crachats sur milieu électif avec l'inoculation aux cobayes

Quelques crachats suspects inoculés aux cobayes ont été en même temps ensemencés sur milieu de Pétroff. Plusieurs de ces crachats ont tuberculisé le cobaye dans les délais normaux, alors qu'aucune culture n'était visible à la surface des milieux à la même époque. Nous ajouterons que les crachats qui n'ont pas tuberculisé le cobaye n'ont donné sur milieu électif aucun développement de colonies tuberculeuses. Ces derniers résultats ainsi que les résultats médiocres des ensemencements de crachats négatifs à l'examen direct précédemment observés nous prouvent que la technique de culture ne saurait encore remplacer l'inoculation (1). Celle-ci, malgré ses quelques imperfections, reste donc le meilleur procédé pour déceler le bacille de Koch qui n'aurait pas été mis en évidence par les autres méthodes.

Observations des malades dont les crachats négatifs aux examens directs et à l'homogénéisation ont été ensemencés sur milieu de Pétroff.

OBSERVATIONS DE MM. CAUSSADE ET CRIBIER

OBSERVATION I. — Crachats assez abondants tirant sur le vert.

Caverne du sommet droit et infiltration assez étendue du sommet gauche. Diagnostic vérifié par la radioscopie.

Fièvre : 39°2 et 38°5.

Epididymite opérée. Laryngite ayant tous les caractères de la laryngite tuberculeuse. Réaction de Bordet-Wassermann négative à plusieurs reprises. Cuti-réaction positive. Réaction de Besredka positive. Mort par granulie.

OBSERVATION II. — Crachats peu abondants, petits, légèrement jaunâtres, nummulaires, parfois mousseux, examinés à la fin d'une poussée congestive qui a été peu fébrile (38°5). La radios-

1. La culture permet à la rigueur d'attendre l'inoculation (Armand Delille).

copie montre : 1. un voile grisâtre aux deux sommets des poumons et ne s'éclairant pas à la toux et 2° une adénopathie hilare double mais peu prononcée. La poussée congestive a été double aussi et donnait à la radioscopie des ombres assez intenses occupant le tiers supérieur des deux poumons.

OBSERVATION III. — Crachats assez abondants, blanchâtres, petits, très visqueux, nageant dans une solution visqueuse et gommeuse. Poussée de bronchite aiguë avec bruit de tempête. Fièvre 39°5 et 39 degrés. La radioscopie révèle les ombres suivantes : A droite et à gauche ombre uniformément prononcée dans les deux tiers supérieurs des poumons, il existe, en outre, des déformations assez accentuées du diaphragme pendant l'inspiration, ce qui fait penser à des adhérences. Ombres hilaires exagérées des deux côtés. Cœur gauche dilaté. Oreillette gauche dilatée. Ancien paludéen. Hémoptysies abondantes survenues il y a un an environ.

OBSERVATION IV. — Crachats blancs opaques, floconneux, petits, peu abondants, recueillis au trentième jour environ de l'infection. Fièvre très élevée (39°5-39 degrés). Amaigrissement progressif et rapide. Sueurs profuses. Cyanose. Dyspnée intense et continue. Début aigu. Evolution aiguë. Infiltration des deux sommets. Radioscopie. Ombres grises parsemées de petites taches noires ne s'éclairant pas à la toux. Adénopathie hilare bilatérale.

OBSERVATION V. — Crachats peu abondants, légèrement jaunâtres floconneux, petits, nageant dans un liquide assez visqueux, très adhérents, opalescents et contenant des polynucléaires, des cellules pulmonaires et des pneumocoques. Crachats examinés après un mois d'évolution d'une pleuro-cortalite aiguë survenue brusquement et qui s'était accompagnée d'un épanchement pleural séro-fibrineux contenant exclusivement des lymphocytes et dont l'inoculation à un cobaye a provoqué la tuberculose dans les délais classiques.

Observations recueillies aux sanatoriums de Bligny

OBSERVATION I. — Cf. observation I des inoculations au cobaye.

OBSERVATION II. — Cf. observation II des inoculations au cobaye.

OBSERVATION III. — Fibro-caséuse bilatérale plus active à

gauche qu'à droite, occupant le lobe supérieur surtout accusée en arrière.

Radio. Diminution de transparence de tout le tiers supérieur du poumon droit avec taches claires disséminées fines (aspect en mie de pain), grisaille sur le reste de l'étendue du champ pulmonaire.

Diminution de transparence de tout le lobe supérieur gauche, quelques fines taches claires. Eclairage nul à la toux.

Jeu du diaphragme retardé.

Expectoration intermittente, 10 examens directs négatifs, une homogénéisation négative. Présence de bacilles de Koch dans les selles.

OBSERVATION IV. — Fibro-caséuse de la moitié supérieure du poumon gauche, avec foyers de ramollissement assez denses dans les parties supérieures. Infiltration du sommet droit.

Ba. illoscopie : expectoration intermittente et rare, 11 examens directs négatifs, 2 homogénéisations négatives. Ensemencements sur milieu de Pétroff le 15 octobre 1923.

OBSERVATION V. — Sclérose de la moitié supérieure du poumon droit avec bronchite, quelques points suspects en arrière à surveiller. Localisation plus discrète au sommet gauche. Crachats très rares.

OBSERVATION VI. — Fibro-caséuse de la moitié supérieure droite avec foyers de ramollissement plus accusés et plus actifs en arrière, profonds et denses au sommet.

Radioscopie. — Légère diminution de transparence du 1/3 supérieur du poumon droit, sans apparence de taches. Le sommet s'éclaire un peu moins que le gauche. Accentuation de la corne hilare inférieure.

OBSERVATION VII. — Infiltration fibro-caséuse du lobe supérieur droit plus accusée en avant. Pleurocorticalite de la moitié inférieure gauche, un peu plus dense et profonde en arrière.

Radioscopie. — Base diminuée de transparence. Légère rétraction du sommet qui, en vue postérieure, ne s'ouvre pas à la toux. Obliquité costale de la moitié supérieure. On ne note pas de taches.

OBSERVATION VIII. — Localisation du lobe supérieur droit à dominante scléreuse. Bronchite.

Radioscopie. — Poumon droit : zone obscure au niveau de la région claviculaire externe dans laquelle on distingue un anneau de 2 centimètres environ de diamètre à centre plus clair se réduisant un peu à la toux, Thorax large et gris d'emphysémateux.

OBSERVATION IX. — Pleuro-corticalite des deux bases plus accusée à gauche. Infiltration du lobe supérieur droit plus marquée en avant.

Radioscopie. — Diminution homogène de transparence des deux bases sans grande accentuation d'un côté plus que de l'autre.

OBSERVATION X. — Sclérose plus accusée à droite et en arrière. Poussée congestive massive de toute la moitié inférieure du poumon gauche.

Note additionnelle à l'observation VIII : Bacilloscopie positive dans les selles au moment de l'ensemencement des crachats.

CHAPITRE III

VALEUR COMPARÉE DES RÉSULTATS FOURNIS PAR LA RECHERCHE DU BACILLE DE KOCH DANS LES MATIÈRES FÉCALES AVEC CEUX FOURNIS PAR LES AUTRES MÉTHODES BACILLOSCOPIQUES.

Les auteurs sont tous d'accord pour considérer que tous les tuberculeux cracheurs de bacilles en éliminent dans tous les cas par leurs matières fécales. Le mécanisme de cette élimination revient d'une part au passage du bacille dans le foie puis dans les voies biliaires et d'autre part à la déglutition des crachats. Mais, si les crachats sont très bacillifères à l'examen direct, la recherche du bacille de Koch dans les matières fécales par la technique de Moreau et Vénot est beaucoup plus longue ; il faut examiner de nombreux champs avant de pouvoir trouver un bacille de Koch isolé, granuleux et déformé quelquefois.

Les résultats les plus intéressants de cette méthode sont fournis par l'examen des matières fécales de phtisiques, porteurs de lésions pulmonaires souvent considérables et qui ne donnent pourtant aucune expectoration ; il s'agit là presque toujours d'une déglutition inconsciente des crachats, se produisant le matin au réveil chez des sujets porteurs d'une atrésie nasale et dormant la bouche ouverte.

Les résultats les plus anciens sont dus à Philipp et à Porter (1) qui ont recherché les bacilles tuberculeux chez 42 phtisiques qui n'expectoraient point, 29 fois ils ont constaté la présence du bacille de Koch dans les matières fécales. D'autres travaux en cours sur cette recherche sont appelés à fournir des éléments intéressants pour la solution du problème de la tuberculose pulmonaire fermée active.

1. Philipp et Porter, *British med. Journal*, 1910-1911, p. 184.

CHAPITRE IV

LE LABORATOIRE DU PHTISIOLOGUE

De ce que nous avons dit sur l'importance de la bacilloscopie en phtisiologie et sur la rigueur nécessaire de ses techniques, on peut déduire la part qui revient au laboratoire dans les résultats obtenus. Cette part est considérable. Nous n'en voulons pour preuve que les progrès réalisés en bactériologie grâce aux perfectionnements merveilleux de l'outillage optique depuis cinquante ans, en dehors bien entendu de la valeur personnelle des chercheurs et de celle des techniques employées. Sans entrer à ce sujet dans des développements qui sont plus à leur place dans les ouvrages d'optique microbiologique, nous nous attacherons surtout à dresser un catalogue de l'outillage indispensable au médecin chargé du dépistage des sujets tuberculeux autant qu'au praticien soucieux d'un diagnostic précoce et exact dans l'intérêt même de ses malades.

Nous n'avons en vue qu'une organisation aussi simple, aussi facile et aussi peu coûteuse que possible (conditions essentielles dans la plupart des entreprises) mais cependant capable de répondre au but qui lui est assigné.

Local et mobilier à usage de laboratoire. — On choisira une chambre de 4 m. 50 $\times$ 5 $\times$ 3, 50, exposée au nord afin d'éviter le soleil mais bien éclairée par une large fenêtre. Le mobilier comprendra les objets suivants : une table en lave porcelainée occupant toute la plus grande dimension, scellée au mur de la fenêtre.

A l'une des extrémités de la table, aménager un évier avec un robinet d'eau froide ; près de l'évier, sur la table disposer les colorants et réactifs les plus usuels ainsi que tout le petit matériel destiné aux colorations et aux autres manipulations ;

Au centre de la table placer le microscope sur un feutre

et sous une cloche en verre en face de la fenêtre. C'est à cette place que se feront tous les examens microscopiques. Le microscope ne doit être déplacé qu'exceptionnellement.

A l'autre extrémité de la table placer un réchaud à gaz et accessoirement une petite étuve de Roux ; on peut aussi installer par terre à proximité un autoclave et un four à flamber.

La centrifugeuse est fixée près de l'évier sur une forte assise de maçonnerie.

Une balance d'une force de 1 kilogramme, avec ses poids et de la grenaille de plomb, est placée sur une planchette scellée au mur.

Deux placards servent à contenir les colorants, la verrerie et les produits chimiques en réserve.

Chauffage et éclairage. — Le chauffage se fera au gaz dans la majorité des cas ; une conduite à trois branches arrive à la table : une est destinée au brûleur de Bunsen ; une deuxième va au bec Auer portatif servant à l'éclairage du microscope ; la troisième branche est réservée à l'étuve. La conduite du réchaud peut servir à l'autoclave ou au four à flamber quand ils existent.

Pour l'éclairage on emploiera de préférence le gaz ou l'électricité. Il comportera au minimum une lampe pour l'éclairage général de la pièce et une lampe portative pour l'éclairage du microscope.

Si le gaz n'existe pas, on remplace le bec Bunsen par la petite lampe à alcool ordinaire ; une grosse lampe à pétrole servira à éclairer le microscope ; enfin le réchaud à gaz sera remplacé par un réchaud à alcool ou à essence (modèle Rip).

Microscope. — Pour le choix du microscope il y a lieu d'envisager successivement le statif, l'oculaire et les objectifs.

Le statif le plus simple est le meilleur. On prend le trépied du modèle Pasteur. Le tube est ordinaire avec articulation permettant l'inclinaison. Le statif doit porter un éclairage Abbe, un miroir à deux faces et une platine mobile (modèle Malassez). Le tube porte un revolver avec un objectif.

Un seul oculaire suffit ; choisir l'oculaire compensateur n° 3. On aura à sa disposition deux objectifs, un faible n° 1 ou n° 2 et un objectif à immersion au 1/12.

Lorsque le microscope n'est pas en service, il doit être toujours tenu sous son globe. On aura à sa disposition des linges fins, une bouteille d'huile de cèdre et du xylol dont

on usera avec ménagement pour l'entretien de l'instrument.

Colorants. — On préparera des solutions toujours en assez grandes quantités et on aura une réserve de colorants en poudre. Les plus nécessaires sont : la fuchsine, le violet de gentiane, le cristal violet, le bleu de méthylène, l'alcool picriqué.

Verrerie. — On aura environ 150 lames de 25 mm × 95 mm. dont 50 seront en service et 100 en réserve, — 2 cristallisoirs (un de 1 litre pour le lavage des préparations, un pour la conservation des lames en service), — un jeu de 8 tubes à centrifuger numérotés et en service, 10 en réserve, — 12 tubes à essai, — 2 éprouvettes graduées (25 cmc. et 150 cmc.), — 5 verres à expériences de grandeurs diverses — 2 petits entonnoirs, — 2 grands entonnoirs de 50 centimètres cubes, — 2 pipettes (1 cmc. et 10 cmc.), — 1 cuvette de Calmette, 6 cuvettes en verre pour coloration (7 × 4 × 2 cm.), — 1 mortier et 1 pilon de verre pour la préparation des colorants, — 5 flacons compte-gouttes pour les colorants en service, 5 grands flacons pour les colorants liquides en réserve, — 1 grande casserole de 2 litres d'eau, 1 brosse à chiendent, 1 écouvillon.

Crachoirs d'analyse (genre poudrier) en nombre variable suivant le nombre de malades.

Les lames devant servir à plusieurs examens, il est nécessaire de les traiter avec beaucoup de soin afin qu'elles puissent faire un long usage. Chaque semaine on les fera bouillir vingt minutes dans la casserole de deux litres d'eau dans laquelle on aura mis 200 grammes de carbonate de soude, on les brossera ensuite et elles seront essuyées une à une, on les conservera dans un cristallisoir.

Matériel de coloration et d'homogénéisation. — Ce matériel comprendra :

1 platine chauffante, — 1 fil de platine, — 2 spatules en platine pour prélèvements des crachats dans le crachoir d'analyse, — 8 capsules en porcelaine numérotées de 1 à 8 et avec leurs tares respectives numérotées de 1 à 8 (sacs de plomb), — 2 portes tubes à essai ou à centrifuger de 8 places, — 1 égouttoir pour lames, — 1 trépied, — 1 boîte métallique, — 1 main de papier filtre, — 1 crayon gras pour marquer le verre, — 1 registre alphabétique pour consigner les examens.

Produits chimiques. — Une partie des produits chi-

miques restant en réserve, les produits en service sont placés sur la table dans la boîte spéciale compartimentée dite à réactifs.

Ces produits sont les suivants :

Eau distillée 1 litre, — alcool à 95° 1 litre, — éther sulfurique 250 centimètres cubes, — acide azotique 1 litre, — acide chlorhydrique 1/2 litre, — acide acétique glacial 250 centimètres cubes, — lessive de soude pure 150 centimètres cubes, — lessive de soude à 10/00 1/2 litre, — eau de Javel 1/2 litre, — antiformine pure 500 centimètres cubes, — ligroïne 125 centimètres cubes, — acide phénique 500 gr., — carbonate de soude, chlorure de sodium 100 grammes, — iode 5 grammes, — iodure de potassium 20 grammes.

Matériel accessoire. — On peut comprendre dans ce matériel :

1° La centrifugeuse ; la centrifugeuse électrique à 4 places modèle Jonan est la meilleure. On peut employer une centrifugeuse hydraulique. Il existe un modèle à main permettant une rotation très rapide.

2° L'étuve de Roux (50 cm. $\times$ 50 $\times$ 50) à régulateur se chauffe au gaz, au pétrole ou à l'électricité.

3° L'autoclave de 30 cm. $\times$ 60 cm. pour le milieu de culture à stériliser le four à flamber de 40 $\times$ 65 cm. destiné à la stérilisation de la verrerie (1).

Quelques considérations sur l'élevage du cobaye (2)

Certains animaux et le cobaye en particulier, sont, nous l'avons dit, de précieux auxiliaires pour la médecine expérimentale et constituent en quelque sorte de véritables réactifs de laboratoire. Dans un chapitre précédent (voir Inoculations aux animaux, page 47) nous avons indiqué dans quelles conditions ces animaux devaient être mis en expérience. Il ne sera donc pas déplacé à la suite d'un chapitre consacré à l'organisation matérielle d'un laboratoire de physiologie d'exposer sommairement quels soins doivent être donnés aux cobayes tant au point de vue de l'économie pécuniaire qui en résultera pour le budget de l'établissement qu'en ce

1. Noël Fiessinger, *Les examens biologiques en clientèle*, Maloine, 1922.

2. Paillard, *Journal médical français*, sept. 1922.

qui concerne la valeur physiologique intrinsèque des sujets et conséquemment la valeur démonstrative des observations qu'ils sont appelés à fournir.

L'élevage du cobaye peut se concevoir de deux façons : l'élevage restreint et l'élevage à grand rendement. Le premier peut être effectué assez aisément par le médecin praticien, surtout à la campagne, il ne nécessite guère que l'entretien de 8 à 10 animaux. L'élevage à grand rendement au contraire nécessite une organisation plus complexe comportant cages d'élevage, cages d'accouchement, cages individuelles pour les animaux inoculés.

Les cages d'élevage peuvent être disposées soit en écurie close, soit en plein air le long d'un mur en les protégeant contre la pluie avec une toiture en tôle ondulée. Ces cages sont faites pour douze cobayes. Les parois latérales sont constituées par de grandes dalles en ciment. Le plancher est incliné vers la face antérieure pour l'écoulement des urines et des eaux de lavage que l'on recueille dans une rigole extérieure. Les portes sont grillagées dans leur moitié supérieure, garnies de carton bitumé à leur partie inférieure. En hiver la moitié supérieure peut être elle-même fermée par un paillason.

Les cages d'accouchement ne diffèrent en rien des premières, si ce n'est par leur destination spéciale. Les mères y sont introduites à l'époque de l'accouchement, on les y laisse environ quinze jours ou trois semaines. Plusieurs mères peuvent occuper ensemble la même cage. Ni les mères ni les petits n'ont besoin de soins spéciaux, les petits courant et mangeant dès leur naissance.

Les animaux inoculés doivent être isolés des animaux sains. Si l'on ne disposait pas d'un matériel suffisant pour les loger isolément on pourrait utiliser à cet effet de grands bocalux en verre épais que l'on couvrirait d'un grillage et dont la désinfection serait des plus faciles.

La litière du cobaye est constituée par de la paille qu'on renouvelle tous les huit à dix jours.

La désinfection des cages se fait à l'eau de Javel ou au crésyl. Tous les trois ou quatre mois on les badigeonne au lait de chaux, on peut également goudronner les montures en bois.

Alimentation des cobayes. — Les cobayes sont faciles à nourrir, trois repas par jour leur suffisent. En été on leur

donne les épluchures de légumes verts, de l'herbe, de la luzerne, du trèfle, du sainfoin. En hiver, l'alimentation consistera surtout en foin et en betteraves. Les épluchures de pommes de terre de même que les pommes de terre doivent être cuites. Les carottes, le son représentent une alimentation de secours. Les restes de mets non utilisés peuvent être employés mais avec circonspection, les mets pouvant avoir été infectés par des tuberculeux. L'alimentation doit être aqueuse, si elle est trop sèche, on donne de l'eau dans de petits bacs suffisamment stables. Les femelles en lactation ont besoin d'une nourriture assez riche en eau. Les cobayes nouveau nés mangent dès leur naissance, néanmoins il est bon que l'allaitement leur soit assuré pendant quelques jours.

CONCLUSIONS

Des études comparatives que nous avons faites entre les différentes méthodes bacilloscopiques en phtisiologie nous pouvons conclure que :

1° L'examen direct des crachats correctement fait et répété à intervalles réguliers a une valeur considérable. Le meilleur procédé de coloration du bacille de Koch dans les crachats est celui de Ziehl-Neelsen, mais il y a lieu de retenir comme donnant d'excellents résultats les colorations de Tribondeau-Jøetten, Bender, Schulte-Tigges;

2° La méthode d'homogénéisation n'est intéressante que par la rapidité des examens positifs fournis. Elle n'a guère plus de certitude que l'examen direct correctement fait et répété à intervalles réguliers.

Les techniques d'homogénéisation les meilleures sont : celles de Bezançon et Philibert, celle du professeur Calmette et celle de Lorentz ; ces deux dernières plus simples que la première donnent des résultats égaux. Quant aux techniques se passant de la centrifugation, celle de Quelme et Houal donne les résultats les plus intéressants.

Les techniques de concentration bacillaire par autolyse des crachats à 37 degrés fournissent des résultats nettement inférieurs aux précédentes ; elles sont pourtant améliorées par l'homogénéisation du culot de sédimentation ;

3° L'inoculation au cobaye est le procédé le plus sensible pour la recherche du bacille de Koch dans les crachats tuberculeux. Elle a un intérêt capital, car elle permet de classer définitivement une expectoration suspecte. La technique d'inoculation intra-hépatique est celle qui donne les résultats les plus rapides ;

4° La culture du bacille de Koch contenu dans les crachats tuberculeux est encore à l'étude. Elle ne sera vraiment intéressante que lorsqu'elle permettra de déceler rapidement et

rigoureusement le bacille de Koch qui n'aurait pas été décelé par l'examen direct ou par l'homogénéisation. Le milieu de culture employé actuellement avec le plus de succès est le milieu de Pétrof;

5° L'examen bacilloscopique des matières fécales s'impose au moins chez tous les sujets suspects de tuberculose qui ne peuvent fournir d'expectoration;

6° Le laboratoire du dispensaire antituberculeux doit être outillé pour permettre de pratiquer couramment des examens directs et des homogénéisations.

Vu : le Président de la thèse,

L. BERNARD

Vu : le Doyen,
H. ROGER

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,

APPELL

BIBLIOGRAPHIE

GÉNÉRALITÉS

- Agasse Lafont (E.)*. — Les applications pratiques du laboratoire à la clinique, principes techniques, interprétations des résultats, 3^e édit. Vigot, Paris, 1923.
- Barbaro*. — El examen de los esputos como elemento diagnostico y pronostico en tuberculosis pulmonar (Prensa Argentina, 1918-1919).
- Bard*. — Les examens de laboratoire. Masson, 1920.
- Bernard (Léon.)* — La Tuberculose pulmonaire. Masson, 1920.
- Valeur comparée des examens de crachats tuberculeux (Revue de la tuberculose, 1^{er} janv. 1923).
- Bezançon et de Jong*. — Examen des crachats. Masson, 1912.
- Bezançon et Rollot*. — Valeur de variations morphologiques du bacille tuberculeux au point de vue du diagnostic et du pronostic (Revue de la tuberculose, 1921).
- Calmette*. — L'Infection bacillaire et la tuberculose. Masson, 1922.
- Davis*. — A comparison of methods for the diagnosis of tuberculosis by sputum o examinations (Med. Record, N.-Y. 1913).
- Dopter*. — Traité de Bactériologie. Baillière, 1921.
- Ertisek*. — A comparative study of three methods for the diagnostic of tuberculosis (Boston medical and Surgical Journal, 1914).
- Ferguson (E. W.)*. — Examination of sputa for tubercle bacilli, (Rep. Gov. Bur. Microbiology, 1914).
- Fiessinger (Noël)*. — Les examens biologiques en clientèle. Maloine, 1922.
- Grenet*. — Remarque sur le diagnostic rationnel de la tuberculose (Monde médical, 1918).
- Kahn*. — The significiance of negative sputum examination in pulmonary tuberculosis (Med. Record. N.-Y., 1917).
- Laroche (Guy)*. — Examens de laboratoire. Masson, 1921.
- Legeay (J.) et Liot (A.)*. — Des prélèvements. Vigot, 1921.
- Letulle et Halbron*. — La tuberculose pulmonaire. Baillière, 1923.

- Lochelongue et Camors.* — Du rôle du laboratoire dans la prophylaxie de la tuberculose pulmonaire (Revue d'hygiène et de Police sanitaire, 1920).
- Rist.* — Principes sur le diagnostic rationnel de la tuberculose pulmonaire (Presse médicale, 1916).
- Roubier.* — Quelques comparaisons entre les examens clinique, radioscopique et bactériologique (Progrès méd. 1919).
- Penofler.* — Commentaires sur les différents moyens de diagnostic de la tuberculose pulmonaire (Revue des Philippines de médecine et de pharmacie, 1919).
- Pissavy et Robinne.* — Contributions à l'étude de la morphologie du bacille de Koch dans ses rapports avec l'activité du processus tuberculeux (Revue de la tuberculose, 1921).
- Satterlee.* — Revue de la Tub., n° 1, 1923, p. 50-52.
- Sergent (Emile).* — Traité de pathologie médicale et de thérapeutique appliquée (Tuberculose, XVIII. Maloine, 1922).
- Notes et Résumés des travaux de bactériologie du laboratoire de l'hôpital Pasteur, 1922.

COLORATIONS DU BACILLE DE KOCH DANS LES CRACHATS

- Alliot.* — Appareil pour la coloration des lames en série (Revue d'hygiène et de police sanitaire, 1920).
- Bayard.* — De la décoloration de la liqueur de Ziehl dans l'examen direct du bacille de Koch dans les crachats (Bulletin des Sciences pharmacologiques, 1918).
- Bender.* — Recherche du bacille de Koch dans les crachats (Centralblatt für Bakteriologie, 1921, 86. p. 667).
- Bergen.* — Une remarque critique sur la décoloration du bacille tuberculeux par le sulfite de soude (C. Blatt für Bak., 88, p. 598).
- Berka.* — Col. du bacille tub. (Wiener Kl. Woch., t. XXX, 1917, p. 1552).
- Bernblum.* — Comparaison de certaines techniques de coloration du bacille de Koch dans les crachats (Centralblatt für Bakteriologie, 87, 1^{re} sept. 1921, 23-27).
- Biot.* — Coloration du bacille par une technique de Ziehl-Neelsen modifiée (G. Hôp., 1914).
- Böhm.* — Comparaison de plusieurs méthodes de coloration du bacille de Koch dans les crachats (Centralbl. für Bakt., 1912, t. LXII, p. 497).
- Botti.* — La méthode de Konrich pour la coloration du b. de Koch (Il Policlinico, XLII, 1921, 538-540).
- Bourdy.* — Recherche du bacille tuberculeux dans les crachats

- en employant comme agent décolorant les solutions alcalines (Bulletin des Sciences pharmacologiques, 1918).
- Cépède*. — Coloration du bacille de Koch dans les crachats par le lacto bleu (C. R. Académie des Sciences, 1918, 25 fév., p. 357-359).
- Cromer*. — Le procédé de Much pour la coloration du bacille de Koch dans les crachats. Sa valeur clinique (Revue médicale de Suisse romande, 1918).
- Dumarest et Lelong*. — Note sur la coloration directe du bacille de Koch par le lacto bleu de méthylène alcoolique (Presse méd., 1920).
- Gamma*. — Deinuovi metodi ricerca dei bacilli de Koch nell espetarato (Gazetta d'Ospedale. Milano, XLIX, pp. 1909-1912).
- Gosbarini*. — Sulla coloration del bacillo di Koch (Policlinico, 1919).
- Gat, Papacostas, Lacoste*. — A propos d'une méthode de mise en évidence des bacilles de Koch après décoloration par le sulfite de sodium (C. R. Biologie, 1921, p. 405-406, LXXXIV).
- Geske*. — La coloration du bacille de Koch. Etude comparative des méthodes nouvelles (Zeitschrift für Tuberculosis, 1922, p. 351).
- Hammer*. — Coloration du bacille de Koch, modification de Ziehl-Neelsen. Hosp. Tid Kjbenh, 1920.
- Hoffmann*. — Recherche du bacille de Koch sur fond noir (Centralblatt für Bakt., 84).
- Jacob*. — L'examen microscopique direct des crachats tub. (J. M. F., sept. 1922).
- Jötten-Haarmann*. — Nouvelle méthode de coloration du bacille de Koch dans les crachats (Münchener med. Wochenschrift, t. LVII, 11 juin 1920, p. 692-693).
- Kaplensky*. — Supériorité de la technique de Ziehl-Neelsen pour la recherche des bacilles de Koch dans l'expectoration (Revue médicale de la Suisse romande, 1915).
- Kirchenstein (Auguste)*. — Sur la coloration du bacille de Koch (Structure et mode de développement) (Annales de l'Institut Pasteur, mai 1922).
- Kongsted*. — Diverses recherches comparatives sur les techniques de Jötten-Haarmann et Ziehl-Neelsen (Centralblatt für Bakteriologie, août 1920, LXXXIV, p. 513-515).
- Konrich*. — Coloration nouvelle du bacille de Koch (Deutsche med. Wochenschrift, 1920, p. 741, XLVI).
- Lesieur et Pintenot*. — Procédé simplifié pour la coloration du bacille de Koch dans les crachats (C. R. Biologie, 1919)

- Lommitzsch (R.)* — Coloration du bacille de Koch (Zeitschrift für tuberculosis, t. XXXVII, p. 112-125, 1922).
- Luisi.* — Nouvelle méthode de coloration du bacille de Koch (Annali d'Hygiene, mai 1922).
- Marx.* — Note sur la coloration du bacille tuberculeux dans les crachats (Münchener med. Wochenschrift, 1919, p. 416).
- Meillière.* — Tribune médicale, 1913.
- Philibert.* — Examen direct des crachats (Journal méd. français, sept. 1922).
- Porges.* — Méthode de coloration du bacille de Koch dans les crachats (Münchener med. Wochenschrift, 1916, p. 1164).
- Rosenthal.* — Nouvelle méthode de coloration du bacille de Koch dans les crachats (Münchener med. Woch., 1918, 1282. 184).
- Schædel.* — Coloration du bacille de Koch dans les crachats (Deutsche med. Woch., 1920, p. 671, 46).
- Deutsche med. Woch., 1920, p. 693, LXVII).
- Shoub.* — Critique de coloration de Schulte Tigges (J. Bact., 1923, VIII, 121-126).
- Spehl.* — Double coloration du bacille de Koch par la méthode de Spengler modifiée (C. R. Biologie, 1918, p. 248).
- Spreitzer.* — Différentes recherches comparatives sur les colorations du bacille de Koch (Centralbl. für Bakt., 8 juillet 1921, 458-461).
- Tigges.* — Coloration du bacille de Koch (Deutsche med. Woch., 1920, p. 1225).
- Tribondeau.* — Note sur la coloration du bacille tuberculeux dans les crachats (C. R. Biologie. Paris, 1917, 780-782).
- Archives de Méd. et de Pharm. nasales, t. CV, 1918, 146-152.
- Ulrich.* — Deutsche med. Woch., 1919, p. 468.
- Von Angerer.* — Recherches comparatives sur la coloration du bacille de Koch dans les crachats (Centralblatt für Bakt., 1918, n° 1, 82, t. I, fasc. 1, p. 1-3).
- Weiss.* — Nouvelle méthode de coloration du bacille de Koch (Zeitschrift für Trib., 1919, t. XXX, p. 330).

HOMOGÉNÉISATION DES CRACHATS TUBERCULEUX

- Adam.* — Une méthode d'enrichissement en bacilles tuberculeux des crachats (Beitrag zur klinik. Tuberculosis, 1915).
- Anglada.* — Recherche du bacille de Koch par homogénéisation (Province médicale, 1913).
- Barberio.* — Il policlinico, XXI, p. 126, 1914.
- Barthélémy et Thomas.* — Critique de la méthode d'homogénéi-

- sation de Cordonnier (Bulletin des Sciences pharmacologiques, 1917).
- Berry et Smeaton.* — Comparative tests of sputum by the Knyum and Ellermann-Erlandsen methods (Journaf of inf Diseases. Chicago, 1914, XIV).
- Bezançon et Philibert.* — Importance clinique de la méthode d'homogénéisation des crachats pour le diagnostic de la tuberculose (Bulletin de l'Académie de Médecine, 1913, p. 643-646).
- Bezançon, Philibert et Gastinel.* — Importance clinique de l'homogénéisation des crachats (Bulletin de la Société médicale des hôpitaux, nov. 1912, p. 467-476).
- Bezançon, Philibert et Mathieu.* — Adaptation de la technique d'homogénéisation de Bezançon et Philibert à l'usage des dispensaires (Revue de la tuberculose, n° 6, 1921).
- Augmentation apparente du nombre de bacilles tuberculeux dans les crachats en voie de putréfaction. Application au diagnostic de la tuberculose pulmonaire (C. R. Biologie, 25 mars 1922).
- Autolyse des crachats tuberculeux à 50° (C. R. Biologie, 16 juin 1922, p. 62).
- Bierry.* — Sur la recherche du bacille tuberculeux dans les expectorations et dans les divers liquides de l'organisme (C. R. Académie des Sciences, 1916, C. L. XIII).
- Brauer.* — Homogénéisation des crachats tuberculeux (Deutsche med. Woch., 1918, n° 10).
- Caussade et Cribier.* — Comparaison des examens de crachats (Société médicale des hôpitaux. Paris, 12 janvier 1923, p. 18-26).
- Cordonnier.* — Note sur une méthode d'enrichissement par l'autolyse des crachats tuberculeux (Bulletin des Sciences pharmacologiques, 1917).
- Corone.* — L'homogénéisation des crachats tuberculeux. Recherches sur trois principales méthodes et sur la densité des liquides d'homogénéisation. Thèse Montpellier, 1911.
- Darbès.* — Sur quelques procédés d'homogénéisation des crachats. Thèse de Bordeaux, 1921-1922.
- Despeignes.* — Nouvelle technique pour la préparation des crachats destinés à la recherche du bacille de Koch (C. R. Biologie, 1921, p. 182-183).
- Distaso.* — Une méthode de coloration du bacille de Koch dans les crachats (Lancet, 1920, t. CXCVIII, p. 197).
- Dixon.* — The examination of sputa for tubercle bacilli (British Journal of Tuberculosis, 1919, p. 22-25).

- Engelsmann.* — Enrichissement des crachats tuberculeux du bacille de Koch (Deutsch. med. Woch., 1914, p. 11-13).
- Faisca.* — Enrichissement des crachats tuberculeux du bacilles de Koch (C. R. Biologie, 1921, p. 1002-1003).
- Favre et Devuns.* — De l'homogénéisation des crachats tuberculeux par auto-digestion et son application à la clinique (C. R. Biologie, 15 juillet 1922).
- Gaussel et Corone.* — L'homogénéisation des crachats tuberculeux étude comparative (Revue de la Tuberculose, 1913).
- Giraud et Derrien.* — Recherches du bacille de Koch dans les crachats fluidifiés par la pyridine (C. R. Biologie, 1916).
- Göckel.* — A convenient method for concentration, staining and isolating bacilli de Koch (Med. Rev., VI, 1919, p. 204).
- Gorescu.* — Nouveau procédé d'enrichissement des bacilles tuberculeux dans les crachats (C. R. Biologie, 29 avril 1922, p. 889-890).
- Greenfield.* — Sédimentation du bacille de Koch dans les crachats (Lancet, 1919, t. CXC VII, p. 423).
- Grysez et Bernard.* — Homogénéisation des crachats par la bile (C. R. Biologie, 1920, 4 déc.).
- Hilgermann et Litek.* — Concentration du bacille de Koch dans les crachats (Med. Klinik Berlin, 1920, p. 959).
- Hirtsmann.* — Procédé de recherche du bacille de Koch dans les produits organiques tuberculeux (Revue médicale de l'Est, mai 1921, p. 292-293).
- Procédé de recherche du bacille de Koch dans les produits tuberculeux (C. R. Biologie. Nancy, 1921, p. 203).
- Hundeshagen.* — Recherches comparatives sur quelques procédés d'homogénéisation (Centralblatt für Bakt., 1918, 82, p. 14-18).
- Jong (de) et Hillemand.* — L'enrichissement apparent des crachats tuberculeux par séjour à l'étuve (Société médicale des hôpitaux, 26 mai 1922, p. 821-832).
- Jættén.* — Recherches comparatives d'un certain nombre de procédés d'homogénéisation (Arb. a. d. Reichamt gesundheit, 1920, t. LII, p. 103).
- Khouri.* — Enrichissement des crachats tuberculeux en bacilles de Koch au moyen du réaction à l'hypobromite (Journal de Pharmacie et de Chimie, 1921).
- Knyum.* — A note on Uhlenhut's method for sputum examination for tubercle bacilli (American J. Publ. Health N.-Y., 1915).
- Koch.* — Enrichissement des crachats tuberculeux (Centralblatt für Bakt., t. 83, p. 351).
- Kurt Bauer.* — Homogénéisation des crachats tuberculeux (Deutsche med. Woch., 15 sept. 1918).

- Laroche et Virmeaux.* — Recherche du bacille de Koch par homogénéisation sans centrifugation (C. R. Biologie, 23 nov. 1918, p. 1085-1086).
- Lucas.* — De l'homogénéisation des crachats. Son importance clinique pour le diagnostic de la tuberculose pulmonaire. Thèse Paris, 1912-1913.
- Machens.* — Zur verbesserung des Antiforminverfahrens beim nachweiss Tuberkelbazillen (Deutsche Tierarzt Wochenschrift, 1921).
- Mathews.* — Antiformin and the examination of tuberculosis sputa (British Journal Tub., 1915).
- Nery.* — Sulla ricerca previa concentrazione del bacillo tuberculare nellospita (Atti d. r. Accademia in Siena, 1917).
- Pfeiffer et Robitschek.* — Enrich au b. de K. des crach. tub. par le mastic bact. (C. f. Bak., LXXXVII, p. 27).
- Quelme et Houal.* — Procédé spécial pour la recherche du bacille de Koch dans les crachats sans centrifugation (Bulletin médical. Paris, 1919, 24 mai, p. 271-273).
- Raphaël.* — And improved concentration technic for detectiv of tubercle bacilli un Sputum (J. Amer. med. Association, LXXV, 24 juillet 1920, p. 245).
- Sabrazès.* — C. R. Biologie, LXXXVIII, 16 déc. 1922, p. 1281-1282.
- Schmitz, Brauer.* — Homogénéisation des crachats tuberculeux (Centralbl. für Bakt., LXXXI, 1918, p. 359).
- Schulz et Ditthorn.* — Homogénéisation des crachats tuberculeux (Centralblatt für Bakt., 31 mars 1917, Abt. I, 79).
- Spehl.* — Homogénéisation des crachats par l'eau de chaux (C. R. Biologie, 1918, p. 250-251).
- Stoia et Dimitresco-Mante.* — C. R. Biologie. Bucarest, 14 f. 1923).
- Voigt.* — Recherches comparatives sur les techniques d'homogénéisation (Centralblatt für Bakt., 1919, t. LXXXV, p. 121-125).
- Vogelbach.* — Différentes recherches sur les méthodes à l'antiformine et sur quelques autres procédés d'homogénéisation (Centralblatt für Bakt., 1919, p. 22, t. LXXXIII).
- Wollez.* — Une simple technique pour la concentration du bacille de Koch dans les crachats tuberculeux (Journal med. Association, 1920).

CULTURE DU BACILLE DE KOCH SUR LES MILIEUX ÉLECTIFS

- Aresu.* — Sur la valeur du milieu de Petroff pour l'isolement du b. tuberculeux (Pathologica, XIV, 1^{er} déc. 1922, 775-776).
- Bossan et Baudry.* — Nouveau procédé d'isolement du bacille

- tuberculeux dans les crachats (C. R. Biologie, 21 oct. 1922, p. 954).
- Burns*. — Some experiments with tuberculosis sputum twenty years old (Am. Rev. Tuberculosis, 1917, 1, 484-488).
- Ensemencements des crachats tuberculeux sur milieu électif (American Review of Tuberculosis, VI, déc. 1922).
- Calmette*. — Ensemencement direct des crachats tuberculeux sur milieu de Petroff (Paris médical, n° 1, 1922).
- Corper, Fiala, Kallen*. — The routine cultivation of tubercle bacilli from the sputum by Petroff's method (Journal of inf Diseases, 1918, p. 267-274).
- Griffith*. — Culture of tubercle bacilli from sputum (British med. Journal 1914).
- Cultures of tubercle bacille from sputum (Lancet, 1916).
- Keitly*. — Journal of esp. med., 1915, t. XXII, f. 2, p. 612.
- A final Report on the cultivation of the tubercle bacillus from the sputum (Journal exp. of medicine, 1916, t. XXIV, f. 2, p. 41).
- Limousin*. — Procédé de culture du bacille de Koch dans les crachats sur milieu de Petroff (Journal méd. français, sept. 1922).
- L'isolement du bacille de Koch des crachats tuberculeux d'après la méthode de Pétroff (Annales de l'Institut Pasteur, n° 8, août 1921).
- Lyall*. — L'isolement du bacille tuberculeux par le procédé de Griffith (American Review of tub. 1922, 899-902).
- Mitchell (O. W. H.) et Simmons (R. R.)*. — Isolation of bacillus tuberculosis from sputum by the method of Petroff (Journal American medicine Association, 1915, LXV, 381).
- Moreau*. — Application du milieu de Petroff, à la culture du b. de Koch (Revue de la Tuberc., 1922, p. 387).
- Nagel*. — Examen critique d'une méthode de mise en évidence rapide des bacilles tuberculeux par des expériences sur les animaux, (Z. f. Tub. XXXI, 1919, 217, 227).
- Petroff*. — Ensemencement des crachats tuberculeux. John Hopkins Hosp., 1915.
- Ensemencement des crachats tuberculeux (Journal exp. of medicine, XXI, p. 58, déc. 1915).
- Pulgher*. — Le milieu de Petroff pour l'isolement du bacille tuberculeux des crachats (Boll. R. Acad. Med. Genova, Anno XXXV, mai-juin 1910, p. 34-36).
- Roatta*. — La coltura del bacillo di Koch secondo il methodo Petrof nella pratica dispenseriale (Tuberculosis Milano, 1922, XIV).
- Roddy (J. A.) et Brower (D. B.)*. — The value of sputum cultures

- in the diagnosis of pulmonary tuberculosis (New-York M. J., 1917, CVI, 66-68).
- Soparkar (M. B.)*. — The cultivation of tubercle bacillus directly from sputum and post mortem materiel (Indian med. Research, 1916-1917).
- Stewart*. — Cultures du bacille de Koch sur milieu électif (Journal of exp. med., XXVI, déc. 1917, p. 755).
- Wang*. — Isolation of tubercle bacilli from sputum and determination of their type (Journal Pathology and Bact., 1916-1917).
- Wilson*. — On the direct cultwation of tubercle bacilli from tissues (British med. Journal, 1920, p. 146).

INOCULATION DES CRACHATS TUBERCULEUX AUX ANIMAUX

- Aubertin et Fontan*. — C. R. Biologie, XXXVIII, 20 janv. 1923.
- Arima*. — Le lapin comme animal d'expérience pour le bacille tuberculeux humain (Zeitschrift für tuberculosis, XXXVI, p. 114).
- Bocquet et Nègre*. — Contribution à l'étude expérimentale de l'infection bacillaire chez les petits rongeurs (Annales I. P., n° 2, févr. 1921).
- Debré, Paraf et Dautrebande*. — La période antéallergique dans la tuberculose expérimentale du cobaye (C. R. Biologie, 3-10-17 mai 1920).
- Debré et Bonnet*. — L'intradermo-réaction tuberculinique au cours de la tuberculose expérimentale du cobaye (C. R. Biologie, 4 mars 1922).
- Jousset*. — Inoculation des crachats tuberculeux aux animaux (Journal médical français, sept. 1922).
- Hermann*. — Application de l'intradermoréaction tuberculinique au diagnostic de la tuberculose du cobaye (Centralblatt für Bakt., 84, 192).
- Rannon*. — Etudes sur la pseudotuberculose du cobaye (Annales de l'Institut Pasteur, t. XXVIII, p. 585).
- Paillard*. — Considérations sur l'élevage du cobaye (Journal méd. français, sept. 1922).

RECHERCHE DU BACILLE DE KOCH DANS LES MATIÈRES FÉCALES

- Calmette*. — Sur l'excrétion du bacille tuberculeux par l'intestin et par les voies biliaires (A. I. P., févr. 1919, p. 60-67).
- Carnot et Libert*. — De la présence du bacille tuberculeux dans

le liquide duodénal (Soc. méd. hôp. Paris, 15 juill. 1921, p. 1 et 4).

Remondy. — Thèse de Paris, 1922, n° 286.

Sergent et Durand. — Valeur de la recherche du bacille de Koch dans les selles (La Médecine, mars 1922).

Sergent et Durand. — Recherche du bacille de Koch dans les selles (Revue de la tuberculose, n° 3, 1922).

Venot et Moreau. — Recherche du bacille de Koch dans les matières fécales (Revue de la tuberculose, 1922, n° 3).

Vénot. — Revue de la tuberc., n° 5, nov. 1923.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
Introduction.....	7
CHAPITRE PREMIER	
Généralités préliminaires.....	13
Prélèvements des excréta tuberculeux.....	14
CHAPITRE II	
Examen microscopique direct des crachats tuberculeux. . .	16
Techniques de coloration du bacille de Koch par la fuch- sine phéniquée.....	18
Techniques de coloration du bacille de Koch par d'autres colorants que la fuchsine phéniquée.....	23
Résultats de l'examen direct microscopique.....	26
Valeur diagnostique de l'examen direct.....	27
CHAPITRE III	
Méthode d'enrichissement des crachats tuberculeux.....	30
Classification des techniques d'homogénéisation.....	30
Techniques d'homogénéisation par des substances alcalines.	32
Techniques d'homogénéisation par l'eau de Javel et l'anti- formine.....	35
Techniques d'homogénéisation par des substances voisines de l'eau de Javel ou de l'antiformine.....	38
Enrichissement des crachats tuberculeux par autolyse.....	40
Enrichissement des crachats tuberculeux par des produits biologiques.....	43
Valeur diagnostique des méthodes d'homogénéisation et d'enrichissement.....	44
CHAPITRE IV	
Inoculation des crachats tuberculeux aux animaux.....	47
Techniques de l'inoculation sous-cutanée des crachats tuber- culeux aux cobayes.....	47
Etude clinique de la tuberculose du cobaye.....	48
Diagnostic de la tuberculose du cobaye.....	49
Autres techniques d'inoculation des crachats tuberculeux aux cobayes.....	53
Critiques de l'inoculation des crachats tuberculeux aux ani- maux.....	55
CHAPITRE V	
Culture du bacille de Koch contenu dans les crachats.....	57
Les milieux électifs de culture : milieux à base d'œuf, milieux à base de pommes de terre.....	57
Techniques de destruction des germes d'association secon- daire.....	62
Valeur diagnostique des cultures du bacille de Koch con- tenu dans les crachats.....	63
CHAPITRE VI	
Recherche du bacille de Koch dans les matières fécales... ..	65
Techniques de recherches du bacille de Koch dans les matières fécales.....	67

DEUXIÈME PARTIE

Valeur comparée des différentes techniques de coloration, d'enrichissement et d'inoculation des crachats tuberculeux.

CHAPITRE PREMIER

Valeur comparée des techniques de coloration du bacille de Koch.....	70
Comparaison des récentes techniques de coloration par la fuchsine phéniquée.....	70
Comparaison des techniques de coloration s'adressant à d'autres colorants que la fuchsine.....	76

CHAPITRE II

Valeur comparée des techniques d'enrichissement.....	80
Comparaison des techniques d'homogénéisation par l'antiformine.....	80
Comparaison des techniques d'homogénéisation par la soude et par l'antiformine.....	81
Comparaison des récentes techniques d'homogénéisation.....	81
Comparaison des techniques d'homogénéisation dispensant de la centrifugation.....	87
Comparaison des techniques d'enrichissement par autolyse avec les techniques d'homogénéisation.....	91

CHAPITRE III

Valeur comparée des techniques d'inoculation aux cobayes	106
--	-----

TROISIÈME PARTIE

Valeur comparée des méthodes bacilloscopiques entre elles

CHAPITRE PREMIER

Comparaison de la méthode d'homogénéisation avec l'examen direct.....	109
Comparaison de l'inoculation des crachats suspects avec l'examen direct et l'homogénéisation.....	112

CHAPITRE II

Comparaison des méthodes de culture avec l'examen direct et l'homogénéisation.....	117
Comparaison des méthodes de culture avec l'inoculation aux cobayes.....	120

CHAPITRE III

Comparaison de la recherche du bacille de Koch dans les selles avec les autres méthodes bacilloscopiques...	124
---	-----

CHAPITRE IV

Le laboratoire du phthisologue.....	125
Conclusions.....	131
Bibliographie.....	133

